

山口獣医学雑誌

第 15 号

昭和 63 年 11 月

山口県獣医学会

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 15

November 1988

THE
YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION
OF
VETERINARY MEDICINE

山 口 県 獣 医 学 会

編 集 委 員 会

阿部 敬一 鹿江 雅光 牧田 登之
山縣 宏* 山下 武彦

(A B C 順 : *編集委員長)

寄 稿 者 へ

山口獣医学雑誌は、山口県獣医学会の機関誌として、毎年1回発刊される。雑誌は、獣医学、人医学、生物学、公衆衛生学およびこれらの関連領域のすべての問題について、原著、総説、短報、記録および資料、等々を登載する。

原稿は、正確に書かれた日本文、英文、独文のいずれでも受理するが、この場合、英文と独文の原稿は、簡潔に要約した日本文抄録を添付すること。

原稿は、郵便番号 754 山口県吉敷郡小郡町下郷東蔵敷3-1080-3, 山口県獣医師会館内, 山口県獣医学会事務局あてに送付すること。

THE YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION OF VETERINARY MEDICINE

EDITORIAL COMMITTEE

Keiichi ABE Masamitsu KANOE Takashi MAKITA
Hiroshi YAYAGATA* Takehiko YAMASHITA

(in alphabetical order : *Editor in chief)

NOTICE TO AUTHORS

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine is an official publication of the Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine.

The Journal is published annually. The Journal publishes original articles, reviews, notes, reports and materials, dealing with all aspects of veterinary medicine, human medicine, biology, public health and related fields.

Manuscripts written in correct Japanese, English or German are accepted ; those in English or German should be accompanied by Japanese summaries.

Manuscripts should be sent to the Editorial Office, *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine, 3-1080-3, Higashikurashiki, Shimogo, Ogori Town, Yoshiki County, Yamaguchi Prefecture, 754 Japan.

山口獣医学雑誌 第15号 昭和63年

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine No.15 November 1988

目 次

綜 説

下垂体前葉細胞の分類
黒住一昌..... 1~42

原 著

日本猿の脳のCT スキャン [英文]
牧田登之・大元隆夫・利部 總・萬場光一・鈴木一生
柴田眼治..... 43~48

豚と猪の脳のCT スキャン [英文]
牧田登之・石田哲也・富永正哉・利部 聰・萬場光一
柴田眼治..... 49~60

アフリカ水牛とアジア(インド)水牛の体重, 臓器重量および腸管の長さ [英文]
牧田登之・朝日奈 暁・一丸 仁・石田哲也・利部 聰
苅屋園弘志・川田 睦・小高礼子・萬場光一・大元隆夫
大上美穂・下内孝司・曾根勝仁・谷口只敏・富永正哉
渡辺 求..... 61~82

黒毛和種の分娩後乳汁中黄体ホルモン測定による卵巢機能回復の検討
白水完治・阿武雅夫..... 83~88

牛の肝蛭症防除に関する研究
4. 稲藁被囊肝蛭メタセルカリアのピニールハウス内および牛舎2階保管による感染力保持期間
の検討
白水完治・阿武雅夫..... 89~92

附 録

投稿規定..... 93
山口県獣医師会学会規則..... 94
山口獣医学雑誌編集内規..... 94
会関係事業・刊行物..... (奥付登載ページ)

English contents are available in a reverse cover in this issue.

綜 説

下垂体前葉細胞の分類

黒 住 一 昌*

〔受付：1988年11月6日〕

REVIEW

CLASSIFICATION OF ANTERIOR PITUITARY CELLS

Kazumasa KUROSUMI

*Institute of Endocrinology, Gunma University, 3-39-15, Showa - Machi, Maebashi City,
Gunma Prefecture, 371 Japan*

〔Received for publication : November 6, 1988〕

Flesch (1884) first classified the anterior pituitary cells into granulated cells and clear cells, as a result of Weigert chrome-hematoxylin staining. Benda (1900) and some other authors classified the chromophil (granulated) cells into acidophil cells and basophil cells. These are the prehistoric era of the research of the pituitary gland, because the function of this organ was not clearly known. In 1925 Bailey and Davidoff named the acidophil cells alpha cells and the basophil cells beta cells. Since this nomenclature of pituitary cells using Greek alphabet, sixty years have passed. The history of research of the pituitary morphology for these sixty years may be divided into three stages each comprising 20 years. The first stage for 20 years was of light microscopic cell identification until 1950. Starting by Fernandez-Moran and Luft in 1949, the second stage of research, that is, the electron microscopic era, began. It consisted of research using experimental morphology and lasted 20 years until Kurosumi (1968). The most recent era is that of immunocytochemistry of both light and electron microscopic levels lasting 20 years until now. The author reviewed prominent works in each of these three stages and gave a new subclassification of each functional type of the anterior pituitary, describing the ultrastructural characteristics of each type and subtype of pituitary cells according to the new classification.

目 次

- | | |
|---------------------------|--------------------------|
| はじめに | 3. 免疫組織化学による研究 |
| 1. 光学顕微鏡による研究 | a. 光顕的免疫組織化学による分類 |
| a. 染色性による分類 | b. 電顕的免疫組織化学(免疫電顕法)による分類 |
| b. 内分泌機能による分類 | |
| 2. 電子顕微鏡による研究, 特に実験形態学的研究 | まとめ
文献 |

* 群馬大学内分泌研究所形態学部門・教授

はじめに

下垂体前葉の細胞分類は組織学のいろいろな領域の中でも、難事に属するもののひとつである。特に学生実習用の光学顕微鏡標本は多くはヘマトキシリン・エオジンで染めてあり、固定法が悪いと酸性細胞と塩基性細胞の区別すら容易でないことがある。Heidenhainのアザン染色で染めてあれば、いくらかましであるが、これも固定法が変わると、まるっきり違った色に染まるので難儀である。ところが学生の方は生理学や生化学の講義で、あるゆる下垂体ホルモンのひとつについて、こと細かく教えられていて、解剖学の教官よりはるかに詳しい知識をもっている。教科書には免疫組織化学や電子顕微鏡による下垂体前葉の細胞分類が説明されているが、そのような標本は簡単には組織学実習用に作ることはできない。したがって専門外の教官にとっては、内分泌腺の組織学とくに下垂体は苦手中の苦手ということになる。これは筆者自身が長い年月組織実習室で学生から逃げて来たことであるし、また筆者だけでなく、多くのまじめな（学生をごまかすことのあまり上手ではない）解剖学教官から質問されては返答に苦しんで来たことである。

私は今はこのように考えている。学生実習用標本では一応赤（酸性）と青（塩基性）と無色（色素嫌性）の区別が出来ればよろしい。ヘマトキシリン・エオジンでもアザンあるいはCHP（クロム明礬ヘマトキシリン・フロキシリン）染色のどれでもよいから、この3種の細胞の区別出来る標本を実習用に備えてほしいと思う。そして酸性細胞の中に成長ホルモン（GH）とプロラクチン（PRL）の産生細胞が、塩基性細胞の中に甲状腺刺激ホルモン（TSH）と性腺刺激ホルモン（FSHとLH）産生細胞が含まれ、副腎皮質刺激ホルモン（ACTH）産生細胞は色素嫌性細胞の中の一部と教えればよい。上記光顕的各グループの中の相互の区別は、免疫組織化学を用いなければ、専門家でも難しいというのが正直のところである。

下垂体前葉細胞を光顕的染色性に基づいて、 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ϵ などとギリシャ文字で命名し、それを各細胞の産生するホルモンと対応させようという分類法が、一時代には盛んに用いられたけれども、もともと光顕的染色性と機能が1対

1に対応できるものではないし、学者によって異なった命名法がとられることと、動物の種によって異なった染色結果が得られるので、統一的な分類は困難である。したがって最近では α -細胞か β -細胞という名称はあまり用いられなくなった。ただ歴史的な意味で一応概観しておいた方が、古い文献を読む時には役にたつであろうと思うから、この機会にこのことについても言及しておこうと思う。

内分泌細胞の形態と機能に関連して、一時期、一細胞一ホルモン説が風靡したことがあり、筆者自身もそのような立場から綜説を書いたことがある。ところが免疫組織化学が普及してくると、同一ホルモンを産生する細胞に形態学的に異なった2~3種の細胞があること、また2種類以上のホルモンが同一の細胞（または同一の分泌果粒）に検出される例がいくつか報告されるようになって、下垂体前葉の免疫組織化学分類は紛糾を余儀なくされるようになってしまった。筆者は下垂体前葉細胞の各グループ、たとえばGH細胞とかPRL細胞といった細胞グループをさらに細分類するときには、従来とられたようなI-II型といった分類を改めて、未熟型、中間型、成熟型というような発生学的分類法を唱えることとした。この線に乗った分類の上に、さらに最近問題になっている2種以上のホルモンの共存について、またそれらのホルモンのprocessing, sorting等の問題について若干触れて、本稿をまとめたと思っている。

前葉細胞をギリシャ文字で呼称した最初はBaileyとDavidoffで1925年であった。それから現在まで約60年が経過したが、その60年にわたる下垂体研究の歴史をほぼ20年ずつ3期に分けることが出来る。第I期は光学顕微鏡による細胞分類の研究であり、第II期、Fernandez-MoranとLuft（1949）からKurosuni（1968）に至る20年が電子顕微鏡による実験形態学的分類の時代、続く最近の20年が第II期の免疫細胞化学（光顕から電顕）の時代である。

以下、時代を追ってこれらの各期の研究ハイライトを回顧してみよう。

1. 光学顕微鏡による研究

当然のことながら、下垂体前葉細胞の形態学的研究も他の組織の場合と同様に、光学顕微鏡によ

る研究に始り、それも単純な形態の観察とそれに基づく分類が先行し、次いで各細胞型の機能に考えが及ぶようになって、さらに電子顕微鏡の発明とその応用法（試料作製法）の開発とともに新しい局面が展開されるようになって来た。

光学顕微鏡による下垂体の研究に関してパイブルと言われるものは、Romeis (1940) の綜説である。これは Möllendorff の Handbuch の第 6 巻第 3 部として出版された 600 ページを超す膨大な著作で、もちろんドイツ語で書かれているが、これに比肩し得る和文の綜説としては、故山田和麻呂教授 (1959) の「下垂体の分泌細胞」内分泌のつどい 第 12 集 (全 129 ページ) があり、英語で書かれたものとしては Herlant (1964) による *International Review of Cytology* 第 17 巻に掲載された綜説 *The cells of the adenohypophysis and their functional significance* (全 83 ページ) がある。後 2 者は若干の電子顕微鏡所見も含まれているが、主な部分は光学顕微鏡的研究成果である。以下これらの成書を参考にしながら、下垂体研究のあけぼのを回顧することにしたい。

a. 染色性による分類

光学顕微鏡の組織切片標本は動植物性あるいは合成アニリン色素で染色し、核と細胞質を異なった色に染め分ける、あるいは細胞質に含まれている果粒等を染め分けることによって、観察を精細にすると同時に細胞分類の基準として用いられて来た。色素に対する染色性によって下垂体前葉細胞を分類した嚙矢は Flesch (1884) である。彼はウマ、イヌ、ヒトの前葉細胞をワイゲルト (Weigert) のクロム・ヘマトキシリンによく染る粗大果粒を含む大型の細胞と、そのような染色反応を示さない小型の境界不鮮明な細胞に二分した。彼とほとんど同じ頃、Dostojewsky (1886) は前者を果粒細胞 (körnige Zellen)、後者を明細胞 (helle Zellen) と呼んだ。次いで Flesch の弟子である Lothringer (1886) は前者をクロム好性細胞 (chromophile Zellen) と呼び、後者を主細胞 (Hauptzellen) と呼んだ。

Schönemann (1892) はペーメル (Böhmer) のヘマトキシリンとエオジンで染めた下垂体前葉で、赤く染る細胞と青く染る細胞を区別し、前者を eosinophile Zellen、後者を cyanophile Zellen と

し、この両者はともに chromophile Zellen に属するとした。ここで chromophil はクロム好性という意味ではなく、色素好性という意味で使われている。これに対して色素にほとんど染らず、明るい細胞はやはり主細胞 (Hauptzellen) と呼ばれた。

従来、明細胞あるいは主細胞といわれた不染性の細胞を色素嫌性細胞 (chromophobe Zellen) と呼び、色素好性細胞 (chromophile Zellen) と対比させたのは、ミトコンドリアの命名者として有名な細胞学者 Benda (1900) である。Benda が色素好性細胞 (chromophile Zellen) とした細胞は Flesch の果粒細胞すなわちエオジン好性細胞であって、そのほかに Benda はきわめて微小な果粒をもつ細胞をみつけて、おそらく Schönemann の cyanophile Zellen に一致するのであろうが、細胞体が酸性色素で染ったり、塩基性色素で染ったりするので、両性好性細胞 (amphophile Zellen) と呼んだ。

Thom (1901) は cyanophile Zellen を塩基好性細胞 (basophile Zellen) と改称し、Gemelli (1907) はエオジン好性細胞を酸好性細胞 (acidophile Zellen) と呼んで、ほぼ今日一般に用いられている光学顕微鏡的細胞分類に近づいた。しかし Gemelli は酸好性細胞と塩基好性細胞の間に移行型 (Übergangszellen) の存在を提唱している。

このようにして染色性に基づく前葉細胞の分類の第 1 段階は、1900 年前後に完成し、次いで 1925 年 Bailey と Davidoff に始ったギリシャ文字を用いる命名法が一世を風靡して、Romeis (1940) に至って一応の完成を見る (Fig. 1 a, b)。

Bailey と Davidoff (1925) は酸好性 (エオジン好性) 果粒を α -果粒、塩基好性果粒を β -果粒と名付けた。これに従って Romeis (1940) はアゾカルミンに染る酸好性細胞を α -細胞、クレゾフクシンまたはレゾルチンフクシンに染る塩基好性細胞を β -細胞と名付け、色素嫌性細胞の中の分化した細胞を γ -細胞と称することにした。さらにクレゾフクシン-アニリンブルー重染色の結果、淡青色に染る細胞を δ -細胞とし、アザン染色でオレンジ色に染る細胞を ε -細胞と名付けた。

Romeis ははじめ基本的染色法として Susa あるいは Stieve の固定液 (昇汞-ホルモール-氷酢酸) で固定し、Heidenhain のアザン染色を用いていたが、これでは β -細胞と δ -細胞の染め分けが

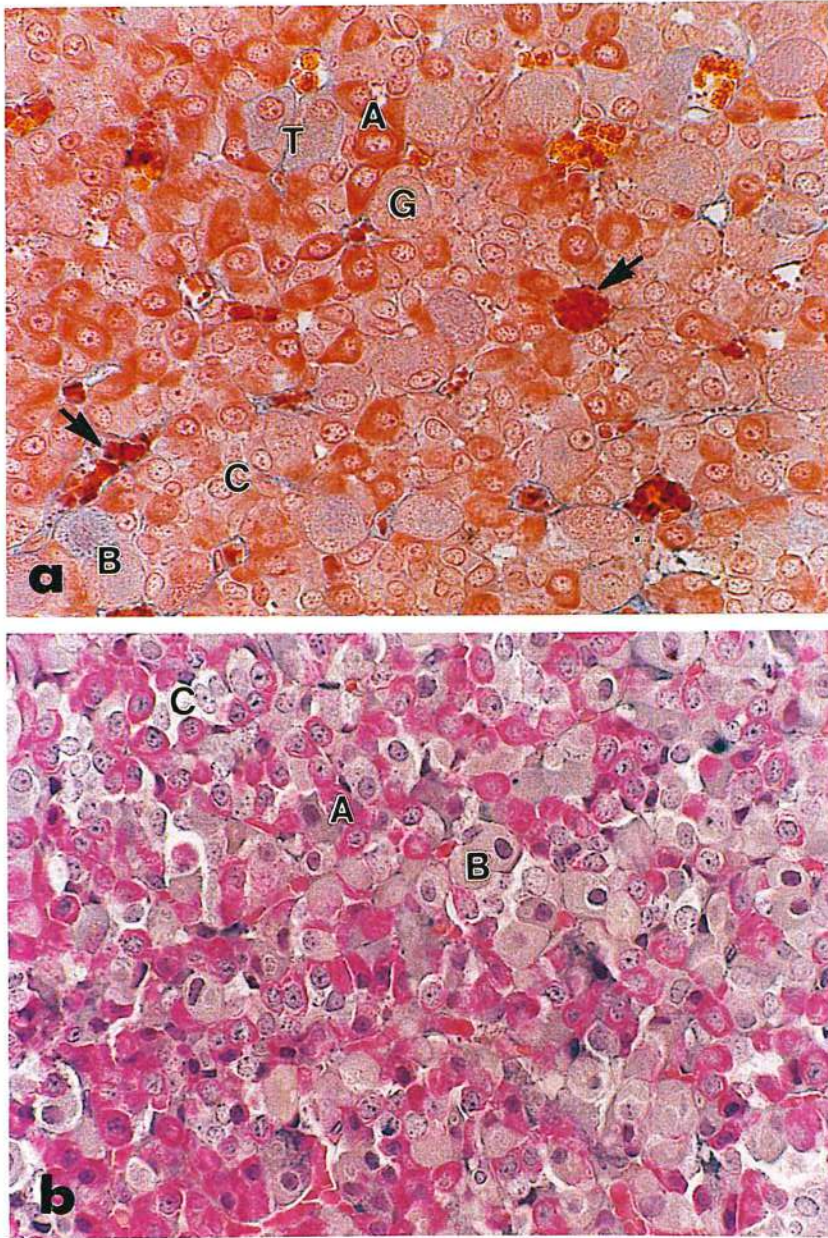


Fig. 1 ラット下垂体前葉の光顕染色標本.

a : Heidenhainのアザン染色. 矢印: 毛細血管 (類洞), 内部の赤血球が赤染.

A : 酸好性細胞, 細胞質が赤橙色に染色.

B : 塩基好性細胞, 細胞質が青色または淡紫色に染色.

T : 甲状腺刺激ホルモン産生細胞, 細胞体が角ばっている.

G : 性腺刺激ホルモン産生細胞, 細胞体は大きく球形.

C : 色素嫌性細胞, 細胞質が不染で, 小さい細胞が集団を作る.

b : Gomoriのクロム明礬ヘマトキシリン・フロキシリン (CHP) 染色.

A : 酸好性細胞, 細胞質が紅色に強染.

B : 塩基好性細胞, 細胞質が青灰色に染色.

C : 色素嫌性細胞, 細胞質が不染で, 小さい細胞が集団を作る.

明瞭でないので、Berblinger と Burgdorf (1935) の方法を採用して、クレゾフクシンとアザン染色を併用してクレサザン (Kresazan) 染色と略称した。これによると、 α -果粒は強赤色、 β -果粒は褐紫色、 γ -果粒は淡紫色、 δ -果粒はコバルト青色に染るといふ。 γ -細胞は色素嫌性細胞であるから、ほとんど果粒を有しないで、淡灰色または淡紫色に細胞質が染るのみであるが、細胞が成長して大形となると細胞質に空胞と果粒を有するようになり、果粒はきわめて小さく紫色に染る。

色素染色性に基づく下垂体前葉細胞の分類、特に α 、 β 等のギリシャ文字を用いる細胞分類法については、専門学者の間に意見の不一致が多く出現し、少なからぬ混乱を招いた。

アザン染色では酸好性細胞に2種が区別され、アゾカルミン (マロリーアザンでは酸性フクシン) に染る細胞とオレンジGに染る細胞である。Romeis (1940) は前者を α -細胞、後者を ϵ -細胞と命名した。しかし Goldberg と Chaikoff (1952) は逆にオレンジGに染る細胞を α -細胞、酸性フクシンに染る細胞を ϵ -細胞とした。Dawson (1946) はネコでアザン染色によりオレンジGに染る普通の酸好性細胞 (orangeophile cell) の他に、アゾカルミンに染る細胞 (carminophile cell) があり、後者は妊娠時に増加し、授乳とともに果粒消失がおこる等の現象から、プロラクチン産生細胞であるとした。Hartmann ら (1946) はイヌで erythrosin によく染る細胞を発見し、これはアゾカルミンに染る細胞と同じであるといふ。ところが Lacour (1950) はプロラクチンの産生細胞は Romeis の ϵ -細胞 (オレンジGに染る) といっているので、全く反対の所説である。ラット・マウス等ではこの両者をアザン染色で区別することは困難である (Yamada *et al.*, 1957)。

塩基好性細胞も β -細胞と δ -細胞に分けられているが、この両者の同定についても混乱している。Herlant (1964) によれば、Halmi (1950) の δ -細胞は Romeis (1940) の β -細胞に一致し、Halmi の β -細胞は Romeis の δ -細胞にあたるという。Herlant (1964) は Halmi の分類を踏襲している。山田 (1959) によれば、 β -細胞はアルデヒドフクシンに染り、PAS 反応に陽性を示すが、 δ -細胞は PAS 反応は陽性であるが、アルデヒドフクシンには染らないという。Jubb と McEntee

(1955) はウシの下垂体で β -細胞は甲状腺機能に、 δ -細胞は性腺機能に関連することを示唆した。

b. 内分泌機能による分類

下垂体前葉の各腺細胞の分泌機能について、どの細胞がどのホルモンを分泌しているかということについて詳細な理解に到達したのは、ごく最近に至ってからであるが、前葉がどのようなホルモンを産生分泌しているかという器官レベルでの機能理解は30年以上前から明白になっていた。すなわち前葉ホルモンは単純タンパク質あるいはペプチドホルモンと糖タンパクホルモンに二大別され、それぞれ少なくとも3種ずつのホルモンが属しているため、合計6種のホルモンが知られている。

1. 単純タンパクホルモン (ペプチドホルモンを含む)

- (1) 成長ホルモン (growth hormone, GH) 以前は somatotropin, STH ともいわれた。
- (2) プロラクチン (乳腺刺激ホルモン) (prolactin, PRL) 齧歯類では黄体維持機能があるので、luteotropic hormone, LTH と呼ばれることもある。
- (3) 副腎皮質刺激ホルモン (adrenocorticotropin hormone, corticotropin, ACTH) ACTH それ自身は39個のアミノ酸からなるペプチドであるが、その前駆体は糖タンパク質であるという。同じ前駆体から ACTH の他に数種の MSH (メラニン細胞刺激ホルモン) と endorphin (内因性鎮痛物質) が生ずるので、これらの共通な前駆体タンパクを pro-opiomelanocortin, 略して POMC という。

2. 糖タンパクホルモン

- (1) 甲状腺刺激ホルモン (thyroid-stimulating hormone, thyrotropin, TSH)
- (2) 生殖腺 (あるいは性腺) 刺激ホルモン (gonadotropic hormone, gonadotropin, GTH) つぎの2種類がある。
 - (2-1) 卵胞刺激ホルモン (follicle-stimulating hormone, follitropin, FSH)
 - (2-2) 黄体形成ホルモン (luteinizing hormone, lutropin, LH)

以上3種類の糖タンパクホルモン、TSH, FSH, LH はいずれも、 α と β の2種のサブユニ

ットから構成されており、 α -subunit は3種のホルモンに共通であるが、 β -subunit は各ホルモン別々である。

これらの各種ホルモンが前葉のどのタイプの細胞から分泌されるかという事は長い間にわたって、下垂体を研究する形態学者にとってきわめて重大な研究課題であった。当初、光学顕微鏡標本において色素に対する染色性から、下垂体前葉細胞を酸好性、塩基好性、色素嫌性細胞に三大別した時、すでに各ホルモンの産生細胞が推定された。酸好性細胞は単純タンパクホルモン、特にGHとPRLを分泌すると考えられ、塩基好性細胞は多糖類や糖タンパク質を染色するPAS反応に陽性であるから、糖タンパクホルモンすなわちTSH、FSH、LHを分泌すると考えられた。ACTHについては酸好性細胞とする説(Herlant, 1964)と塩基好性細胞とする説(Bowie *et al.*, 1974)、さらに色素嫌性細胞とする説(Siperstein, 1963)があつて、諸説紛々として定まらなかつた。

以下、光学顕微鏡レベルで下垂体前葉の各タイプの細胞の内分泌機能を論じた代表的研究について言及する。

成長ホルモンが酸好性細胞から分泌されるであろうことは、主として先端肥大症(acromegaly)を伴う下垂体腺腫についての病理組織学的所見から知られていた(BaileyとDavidoff, 1925)。Romeis(1940)はヒト下垂体について、典型的酸好性細胞である α -細胞はアゾカルミンに好染し、他方オレンジGに染る細胞は ϵ -細胞と呼んだ。しかし他の多くの研究者は各種の哺乳動物で典型的な酸好性細胞はオレンジGに染り、これを α -細胞とし、これに対してアゾカルミンに染る酸好性細胞の方を ϵ -細胞と称し、妊娠時に増加しプロラクチン分泌に関連するとしている(Dawson, 1946; GoldbergとChaikoff, 1952)。

塩基好性細胞は染色性から β -細胞と δ -細胞に分類されている。他方糖タンパクホルモンであるTSH、FSH、LHが塩基好性細胞に由来することもよく知られた事実である。しかし β -細胞と δ -細胞のいずれが、いずれのホルモンを分泌するかについては論議が分かれるところである。Halimi(1950)は β -細胞の特異的染色として、アルデヒド・フクシンを用い、アニリンブルーをライトグリーンに換えたアザン染色で後染色をした。この

標本では酸好性細胞はオレンジ色、 β -細胞果粒は紫色から紫青色、 δ -細胞果粒は緑色ないし青緑色、色素嫌性細胞の細胞質は不染あるいは灰緑色に染る。

PurvesとGriesbach(1951)はMcManusのPAS反応で糖タンパク質を染色したラットの下垂体前葉で、PAS反応陽性の塩基好性細胞を性腺刺激ホルモン産生細胞(gonadotroph)と甲状腺刺激ホルモン産生細胞(thyrotroph)に二大別した。前者は円みを帯びた細胞で前葉の下縁および上縁の中間部に接する所に位置する。この細胞は性腺機能低下によって去勢細胞(castration cell)となる。後者は多角形の細胞で前葉の中心部にあり、甲状腺摘出によって甲状腺摘出細胞(thyroidectomy cell)となる。彼らは β -細胞、 δ -細胞等の名称を用いていない。さらに次の論文で彼らは性腺刺激ホルモン産生細胞を2種に細分し、前葉中心部に位置する細胞(centrally situated gonadotroph)と周辺部に位置する細胞(peripherally situated gonadotroph)とし、前者はLH、後者はFSHを産生するとした(PurvesとGriesbach, 1954)。これは当時一般的に信じられていた一細胞一ホルモン説に従った考え方であつて、その後免疫組織化学が出るに及んで、大部分の性腺刺激ホルモン産生細胞はLHとFSHの両者を同時に含んでいることが知られるようになる。

WilsonとEzrin(1953)はラットにおいてPAS陽性細胞をPAS redとPAS purpleに分け、前者を β -細胞、後者を δ -細胞としている。山田(1959)は β -細胞はPAS陽性でアルデヒドフクシンにも染る細胞で、TSHを産生するが、 δ -細胞はPAS陽性であるが、アルデヒドフクシンに染らない細胞で性腺刺激ホルモンを産生する細胞であるとしている。JubbとMcEntee(1955)はウシの下垂体において、 β -細胞は甲状腺刺激ホルモン産生細胞であり、 δ -細胞は血管に近く位置し、性腺刺激ホルモン産生細胞であるとした。

β -細胞と δ -細胞をこのようにTSH細胞と性腺刺激ホルモン産生細胞に対応させる分類は、その後長く多くの学者によって踏襲されて来たが、他方Herlantは β -細胞はFSH、 γ -細胞はLH、 δ -細胞はTSHの産生細胞とし、電子顕微鏡の分類までこの線で進めて来た(Baranes, 1962; Herlant, 1964)。

Herlantによると、 β -細胞はFSH産生細胞でPASに強く反応し、Romeis (1940)の δ -細胞に相当する。Gomoriのアルデヒドフクシン染色はTSH細胞に特異的な染色法であるとされていたが(Halmi, 1950)、過マンガン酸カリ-硫酸で酸化した後には、この細胞の果粒も強く染色する。

γ -細胞はLH産生細胞であるとされており、その出現は動物種により、また生殖季節によって異なる。 γ -細胞は通常著明な酸好性を示すが、糖タンパク質の含量は種によって異なる。したがって γ -細胞は酸好性細胞に属されることもあり、塩基好性細胞とされることもある。とくに糖タンパク質含量の少ない時はPRL細胞と混同されることがあるとHerlantは言っている。現在はFSHとLHはともに同一細胞(Romeisの δ -細胞、即ちHerlantの β -細胞)から分泌されると考えられているので、LHのみを分泌する細胞が存在するかどうかは問題であるが、Herlantの γ -細胞は酸好性細胞の中のいずれか、おそらくPRL細胞と混同しているであろうと思われる。

Herlantの δ -細胞はTSH産生細胞であって、Romeisの β -細胞に一致する。Halmi (1950)はアルデヒドフクシンに染る塩基好性細胞のみが甲状腺摘出に反応するという。PAS反応のみでは δ -細胞と β -細胞を区別することは出来ない。PAS反応とオレンジGを併用すると、区別できることがある。この染色によると δ -細胞はPAS反応の紫色調に染るが、 β -細胞は煉瓦赤色に染る。あらかじめ酸化処置をしない場合はアルデヒドフクシンに弱く染る(Herlant, 1964)という。

副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)産生細胞が酸好性、塩基好性、色素嫌性細胞の中のどの種類に属するかということは、長い間議論のままであったが、比較的近年になって信頼に値する根拠をもって主張する論文が見られるようになった。中でもSiperstein (1963)は副腎を手術的に摘出したラットに放射性アミノ酸をとりこませ、オートラジオグラフの上の現象銀粒子の数を算定して、最も多く粒子の乗っている細胞が副腎を摘出した結果、機能亢進を来し蛋白合成が盛んになった細胞であり、これがACTHを分泌する細胞であろうと考え、副腎摘出細胞(adrenalectomy cell)と呼んだ。この細胞はPAS反応にも酸好性染色にも染らないので、色素嫌性細胞に由来するものと考え

た。彼女は色素嫌性細胞を大小2種に分類して、ACTH細胞は大型色素嫌性細胞(large chromophobe)に属するとした。ところがBowieら(1974)はメタクリレート包埋のラット下垂体前葉を連続切片とし、同一細胞を1枚は通常の電子顕微鏡所見とし、2枚は光学顕微鏡で、その1枚をACTH抗体で免疫染色し、他の1枚はPAS反応を行ったところ、ACTH細胞の分泌果粒はPAS陽性であると報告した。これはその数年前Bakerら(1970)がACTH細胞がアルデヒド・フクシン陽性であり、弱いながらPAS陽性であるとして、この細胞を塩基好性細胞に分類したものと規を一にするものである。

2. 電子顕微鏡による研究、 特に実験形態学的研究

今までも何回も言及したHerlant (1964)の綜説は光学顕微鏡による下垂体研究の結果が主であるが、同時に電子顕微鏡所見についても、かなりのページを割いている。掲載された電子顕微鏡写真はBarnesのものと同じオリジナルの写真が混ざっている。故山田和麻呂教授の綜説(1959)にも若干電子顕微鏡所見が引用されているが、写真はFarquharとRinehart (1954 a, b)からの転載が多い。電子顕微鏡所見のみに基づいた下垂体前葉の細胞分類に関する綜説は、*Arch. Histol. Jap.* 29巻4号に掲載した筆者の綜説Functional classification of cell types of the anterior pituitary gland accomplished by electron microscopy (Kurosuni, 1968)が初めてのようである。1973年にはContoffがUltrastructure of rat adenohypophysisと題して約200ページの単行書を出版した。和文では1984年吉村不二夫教授が385ページに及ぶ膨大な単行書「下垂体前葉の細胞学」を出版し、同教授の研究グループの長年にわたる研究の成果を集大成した。これは光顕、電顕、免疫組織化学のすべての範囲にわたっているので、電顕による研究に限定できないけれども、電顕所見に最も多くのページを用いている。またその光顕および電顕写真のほとんど全部が自家所見であることは価値が高い。

筆者らは日本電子顕微鏡学会和文誌(電子顕微鏡)17巻2号に和文の綜説として「下垂体前葉細胞」と題して発表した(黒住-井上, 1982)。これ

はわれわれの研究室における免疫電顕的研究の初期のものを含んでいるが、細胞分類の基礎としては、まだ従来の実験形態学的データに基づく所が多い。1968年の英文の拙著と比較して電顕による前葉細胞の分類についての時代の流れを推測する資料となるであろう。

電子顕微鏡が初めて下垂体前葉の研究に利用されたのは1949年、Fernandez - Moran と Luft による分泌果粒の観察であり、その頃はまだ細胞分類とか各細胞型の同定というにはほど遠かった。しかし、その後間もなく発表された Farquhar と Rinehart (1954 a, b) の一連の研究はまさに本格的電子顕微鏡研究の始まりということが出来る。それから約20年間実験形態学的電子顕微鏡的研究が続々と発表された。この時期に活躍した下垂体研究者は、Marilyn Farquhar を始めとして、Barbara Barnes, Eleanor Siperstein, Andree Tixier - Vidal とその共同研究者たち、さらに次の免疫電子顕微鏡時代にはいつて Gwen Moriarty (Childs), Phyllis Bowie など、きわめて多くの女性研究者がいる。下垂体は人間の臓器の中で女性において重量が勝っている唯一の臓器である。これとは関係ないかも知れないが、なぜか下垂体研究者の中では女性が優勢である。

下垂体前葉細胞の電子顕微鏡的分类は単に超微形態学的特徴によって分類するというのではなく、どのような超微形態上の特徴を有する細胞がどのようなホルモンを分泌しているかという機能的細胞分類を目指したのである。そのために用いられた種々の実験(同定法)は以下列記するようなものであった(Kurosumi, 1968)。

(1) 光顕像と電顕像との対比

すでに光顕的研究によって機能の知られている下垂体前葉細胞の光顕的形態像と電顕像を対比して、共通の形態学的特徴を有する細胞は電顕的にも同定可能である。 α -細胞(GH細胞)と β -細胞(TSH細胞)はこのような方法で同定された。同一細胞を厚切り切片とそれに隣接する超薄切片を作り、前者を光学顕微鏡用の染色を施し、後者を電子顕微鏡用に染色して、両方の像を比較することはきわめて有力な同定法となった。

(2) 標的器官の摘出

去勢、甲状腺摘出、副腎摘出等は下垂前葉細胞の機能同定のために最もしばしば利用された実験

形態学的研究方法である。この方法は光学顕微鏡時代から行われていたが、電子顕微鏡が用いられるようになって特に多くの研究者によって実施された。

下垂体前葉ホルモンの中の多数の種類は末梢内分泌腺を刺激して、その機能を促進している。しかし末梢内分泌腺のホルモンは逆に当該末梢内分泌腺を刺激している下垂体前葉細胞の機能を抑制している。これは前葉ホルモンによって末梢内分泌腺が限りなく刺激されて、末梢ホルモンの分泌量が著しく高くなることを防ぐために、自動的に調整する機構が働いているのであって、この機構をネガティブ・フィードバックと称する。末梢内分泌腺を外科的あるいは薬物的に、もしくは放射能によって摘出(あるいは機能廃絶)すると、ネガティブ・フィードバックが除去されるために、摘出された内分泌腺を刺激するホルモンを分泌していた下垂体前葉細胞が著しく刺激されて、機能が亢進すると同時に、形態的にも著しく肥大することが知られている。このメカニズムには視床下部の下垂体前葉ホルモン放出因子などの関与が考えられる。

このような末梢内分泌腺の摘出によって肥大した前葉細胞を電子顕微鏡で観察して、その細胞の分泌果粒をはじめ、いくつかの細胞小器官の特徴を把握して、同じ特徴を有する細胞を正常下垂体で探し出して、その細胞がこの実験において摘出した末梢内分泌腺を刺激するホルモンを産出していたと推定するのである。

(3) ホルモンの投与

末梢内分泌腺のホルモンあるいは上位の視床下部からの神経ホルモン等を動物に投与すると、下垂体前葉細胞の機能が変化しそれに伴って超微形態にも変化が現れるので、それを電子顕微鏡で観察して、その結果から前葉細胞の機能を類推して、機能的分類に寄与することが出来る。

(4) 各種の生理的条件

Barnes (1962) がマウスの下垂体前葉細胞を分類した基礎的実験は雌の動物の性周期、妊娠、分娩、授乳等である。これによって性腺刺激ホルモンやプロラクチンの産生細胞を同定することに成功した。その他、冬眠、成長、変態等とGHあるいはTSHとの関連が研究された。

(5) 各種の病理的条件

自然発生的あるいは人工誘発的下垂体腺腫の電顕観察は正常細胞の同定に役立つことがある。遺伝的こびとマウスのように、ある特定の細胞（たとえばGH細胞）の欠損などの病的状態の観察から、正常な同種動物の特定の細胞の同定が行われた。また遺伝的糖尿病マウスの前葉の観察もされている。

(6) 移植と培養

下垂体前葉細胞の中でプロラクチン（PRL）以外のホルモンを産生する細胞は、視床下部放出因子によって刺激されている。PRLについては抑制因子の方が優勢である。下垂体前葉を正常な位置から移動して、他の体部たとえば腎臓の被膜下に移植すると、放出因子の刺激を失った大部分の細胞は萎縮・死滅し、PRL細胞のみは抑制因子から解放されて盛んに増殖するので、PRL細胞の同定に用いられた。また特定の前葉細胞のセルラインを培養すると、メヂウム中にその細胞が分泌したホルモンが含まれているから、メヂウムを分析することによって、その細胞の機能を推定することが出来る。

(7) 分泌果粒のフラクションの生物活性と電顕像の比較

下垂体前葉細胞の分泌果粒は細胞によって大きさが一定しているものが多いので、前葉組織を擦りつぶして蔗糖の密度勾配法による分画遠心によって、特定の直径の果粒をあつめて、その形態を電顕で観察する一方、そのフラクションにふくまれるホルモンを、バイオアッセイによって同定して、特定のホルモンを含む分泌果粒の大きさや形態上の特徴を知って、どの細胞がどのようなホルモンを作っているか、推定することが出来る。

以上、免疫組織化学による細胞同定が行われる以前の実験形態学的同定法について列挙したが、これらのいくつかの同定法を用いて各細胞型の超微構造上の特徴が知られ、それらの細胞型の産生するホルモンが同定された。以下各細胞型の電顕的特徴について詳述する。

1：性腺刺激ホルモン産生細胞（Gonadotroph）（GTH細胞）

Farquhar と Rinehart (1954 a) の去勢実験は下垂体前葉の電顕研究のあけぼのを飾った第1弾であった。この研究において彼らは Sprague-Dawley の雌ラットについて、去勢によって強い形

態変化を示す gonadotroph に2種類がみられ、第1の種類は去勢後6週から肥大し、分泌果粒とミトコンドリアが増数し、ゴルジ装置も肥大して、細胞質が胞状化する。もうひとつのタイプは去勢後35あるいは75日の例にみられる、種々の程度に空胞化した細胞で、核が暗く不規則となり、細胞質に針金細工のような像が出現する。彼らは Purves と Griesbach (1952) の電顕所見と対比して、前者がFSH、後者がLHを産生するものであろうとしている。後にわれわれが去勢ラットの下垂体前葉を電顕観察した時も、前者の細胞は多く認めたが、後者の針金細工様の細胞にはほとんど出会わなかった。Farquhar と Rinehart (1955) はアメリカ解剖学会の抄録で、2種のGTH細胞の存在を強調し、Type I は去勢ラットに多く出現し、核は明るくて円く、小胞（ER）が楕円形に拡張している。分泌果粒は小さい。Type II は電子密度が高く種々の形をなす核を有し、細胞質にある小胞（ER？）は不規則形で分泌果粒は粗大である。彼らは Type I がFSH、Type II がLH産生細胞であろうとしている。

Barnes (1962) はマウスの下垂体前葉について、正常な成熟雄、正常な未熟な雌、成熟雌の発情周期の各期、雄及び雌の去勢後などについて、詳細な電顕観察を行い、ACTHを除く5種の前葉ホルモンを分泌する細胞をひとつひとつ同定した。1962年の発表では、彼女は Herlant の分類に従ってギリシャ文字を用いた細胞名で記載しており、わかりにくいのが、次の年の発表（Barnes, 1963）ではホルモン名をもって各細胞型を呼んでいる。FSH細胞（彼女の β -細胞）は150~250 μ の分泌果粒を含み、ERは層板状ではなく、球形に拡張している。この細胞の分泌果粒はLH細胞（ γ -細胞）の果粒よりも大きく、かつ電子密度が低い。しかし後にわれわれが指摘したラットのFSH細胞（Kurosumi, 1968）のような2種類の分泌果粒はみられない。Barnes (1962, 1963) のLH細胞（ γ -細胞）は、後にわれわれ（Kurosumi と Oota, 1968）がラットでLH細胞として記載したものに良く似ている。すなわち、電子密度の高い100~200 μ の分泌果粒が、細胞の1極に集中する傾向がある。果粒の大きさにはかなりの幅の変異があると記載されている。

Barnes (1962, 1963) のマウスにおけるLH細

胞と FSH 細胞の電顕形態学的特徴をラットで認めたのがわれわれ (Kurosumi と Oota, 1968) の研究であった。われわれはウィスター・ラットの雌の新生児にエストロゲンを投与し、その投与量と投与日数によって連続発情になったラットと、連続非発情になったラットを作り、卵巢をみると、連続発情ラットでは一次卵胞も胞状卵胞 (グループ卵胞) もあるが、黄体は出来ていない。これに対して連続非発情ラットでは、一次卵胞のみでグループ卵胞も黄体もない。連続発情ラットでは FSH 細胞はほぼ正常であるが、LH 細胞は多数の分泌果粒がたまわっていて、放出が抑制されたようである。連続非発情ラットでは FSH 細胞は強く萎縮しており、少数の分泌果粒を含むのみであるのに、LH 細胞はほぼ正常でむしろやや活性化している (分泌果粒の開口分泌像を認める)。

この結果から Barnes のマウスにおける所見と同様に、FSH 細胞は大きな細胞でほとんど常に血管に接しており、大小 2 種類の分泌果粒を有する。分泌果粒の大多数は小さい果粒で直径 200nm 前後、少数の果粒は大型で直径 500~700nm で電子密度が低い。これに対して LH 細胞は FSH 細胞よ

り小さく、200~250nm の電子密度の高い球形果粒が細胞の一極に集まっている (Fig. 2 a, b)。FSH 細胞の大型果粒は雌よりも雄に多い (Kurosumi, 1968)。しかし、雄ラットを去勢すると、大型果粒は急速に減少し始め、1 週間までに完全に消失する (Kurosumi *et al.*, 1976)。その後小型の果粒も一時減少するが、2 週後ころから小型果粒は増加し始め、3 週後には大きなやや不規則な形の暗い果粒が出始める。この果粒はライソゾームであると思われる。

去勢によって最も大きな変化を起こすのは粗面小胞体で、去勢後 5 日頃から拡大し始めて、相互に融合して遂には巨大な空胞を細胞内に 1 個保有する、いわゆる印環細胞 (signet-ring cell) となる (Fig. 3)。これほど強く変化していなくても、去勢の結果粗面小胞体が拡張し、細胞が肥大した細胞は去勢細胞 (castration cell) と呼ばれている。

Costoff (1973) は前述した単行本で、性腺刺激ホルモン産生細胞 (gonadotroph) については、Barnes (1962, 1963) とわれわれ (Kurosumi and Oota, 1968) の分類を引用して、これによって性

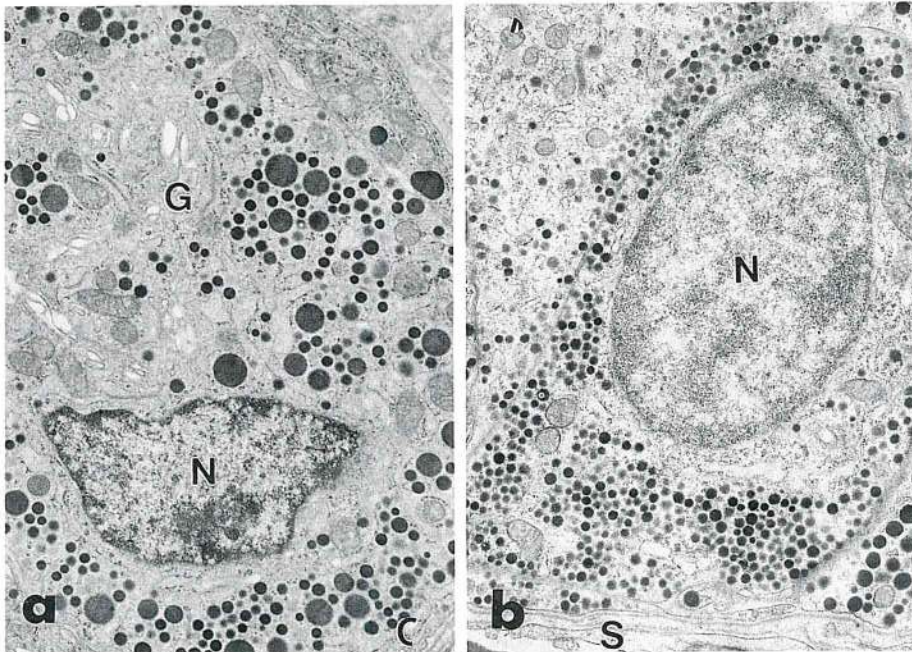


Fig. 2 ラット下垂体前葉の GTH 細胞の電顕写真。

a : I 型 GTH 細胞 (古くは FSH 細胞と呼ばれた), 大小 2 種の分泌果粒を含む。G : ゴルジ装置, N : 核, $\times 8,000$ 。

b : II 型 GTH 細胞 (古くは LH 細胞と呼ばれた), 分泌果粒は小球形で細胞の一極に集中する。N : 核, S : 類洞, $\times 7,000$ 。

腺刺激ホルモン産生細胞を同定している。この中で彼はFSH細胞に2種類の果粒を認めているが、分泌果粒というのは小型(200nm)の果粒を指し、大型(1 μ m)の果粒は分泌果粒とは言わず、light staining bodyと呼んでいる。われわれは後に免疫細胞化学的方法を用いて小型果粒はLHを、大型果粒はFSHを含むことを同定できた(Inoue and Kurosumi, 1985)。したがって大型果粒もまた分泌果粒であると同定できた。Costoffの著書の写真をみると、彼の細胞同定には疑義が残る。Costoffは

LH細胞も去勢後粗面小胞体が拡張して、印環細胞になるとしているが、われわれの観察では、去勢後LH細胞も機能亢進状態を示すけれども、印環細胞にまで発展するかどうか甚だ疑問である。

後述するように免疫組織化学の出現によって、他のホルモンを産生する細胞は別々であるが、LHとFSHは同一細胞で作られている可能性が示された(Nakane, 1970)ので、われわれは従来のFSH細胞をI型(Type I gonadotroph)と呼んだ(Kurosumi, 1974; Kurosumi *et al.*, 1976)(Fig. 2

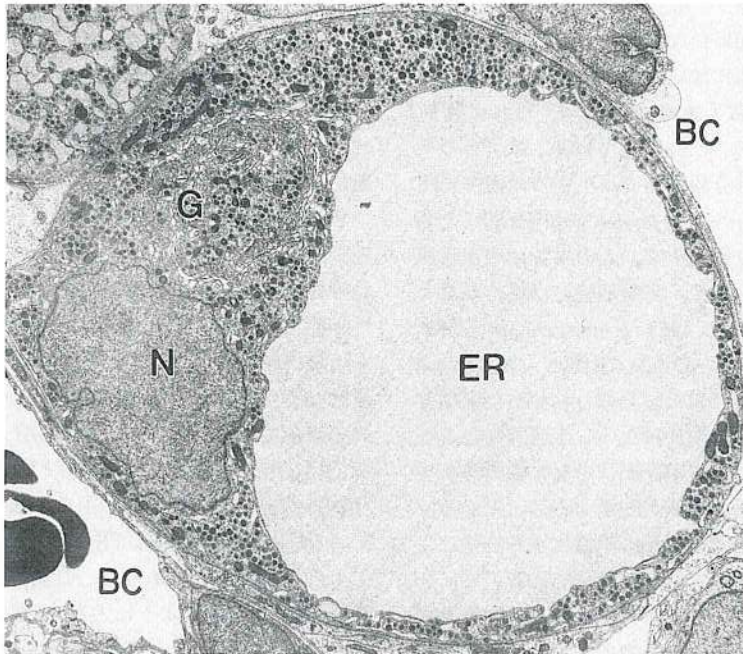


Fig. 3 去勢後3ヵ月のラット下垂体GTH細胞(去勢細胞)。

粗面小胞体(ER)が融合、拡張して巨大な空泡を形成し、核(N)とゴルジ装置(G)は一方に圧迫されて印鑑付き指輪状になるので、印環細胞(signet-ring cell)と呼ばれる。BC:毛細血管。×4,000。

a, b)。

Type I GTH細胞はtypical gonadotroph, Type II GTH細胞はatypical gonadotrophとも呼ばれた(Kurosumi and Ioue, 1980)。Type II GTH細胞には開口分泌(exocytosis)による分泌果粒の放出がしばしばみられるが、Type I GTH細胞では開口放出は正常状態ではほとんど認められない。しかし去勢後数日には細胞表面に多数の小胞と陥凹がみられ、同時に小型分泌果粒の開口像をみる。また稀ではあるが、大型果粒の放出像も認められるが、放出された果粒は非常に小さく、

電子密度は低いから、放出された果粒は急速に液化溶解してしまうものと思われる。

2: 甲状腺刺激ホルモン産生細胞(Thyrotroph)(TSH細胞)

FarquharとRinehart(1954 b)は前述の去勢実験の報告に続いて、同年中に第2報として甲状腺摘出後のラット下垂前葉の電顕所見を発表した。彼らによれば、GTH細胞が大きく円みを帯びた細胞で、必ず血管に接するのに対して、TSH細胞は角ばった形をしており、下垂体の中心部に多く、血管に接触することはないと記している。小

さくて境界の不明瞭な分泌果粒は最大径140m μ である。甲状腺を摘出して5日くらいでTSH細胞は強く変化して甲状腺摘出細胞(thyroidectomy cell)となり、細胞質は多数の小胞ないし空胞で満たされるようになる。これは後に粗面小胞体の拡張に由来すると考えられるようになるが、Farquharはそのようには書いていない。この小胞の大きさは細胞により、また個体によっていろいろであるが、甲状腺摘出後時間とともに大きくなるようである。分泌果粒は甲状腺摘出によって減少し、あるいは消失する。

甲状腺摘出後10日になると、細胞質の小胞(粗面小胞体)の内部に球状果粒が出現し、術後日数の経過とともに数も大きさも増す。これは後にFarquharと結婚したPalade(1956)によってモルモットの膵臓外分泌細胞で、小胞体の槽内に認められ、intracisternal granules(槽内果粒)と名付けられたものに相当する。この果粒は甲状腺摘出細胞のみに見られて、去勢細胞には見られない。われわれ(Kurosumi, 1968; Kurosumi and Baba, 1969)はFarquharらの実験を追試し、おおむね同一の所見を得たが、彼らが記載しなかった変化としては、甲状腺摘出後10日ないし2週間になると、ゴルジ装置の付近に著明な網状をなす膜構造が現れ、その内腔に暗い物質が貯溜することである。この暗い物質は電顕レベルの組織化学的技術によって、酸性ホスファターゼが陽性であるので、一次ライソゾームであると考えられた。この網状構造ははじめゴルジ装置に由来すると考えられたが、後に筆者(Kurosumi, 1972)はこれをNovikoffのGERLに相当するものと考えた(Fig. 4)。

このように多くの下垂体研究者は、いわゆる甲状腺摘出細胞は甲状腺摘出によって機能亢進状態に陥ったTSH細胞であると考えているが、これに反する考えを持つ学者も若干いる(Dingemans, 1969; Yoshimura *et al.*, 1973 a, b; Kiguchi, 1978)。中でもDingemans(1969)は放射性ヨウ素による甲状腺摘出、抗甲状腺剤および低ヨウ素食を合併処置したマウスについて、甲状腺摘出細胞は2種の由来から生ずると唱えた。その1はLTH(PRL), LH,あるいはGH細胞のいずれからか生じ、その2は従来マウスでは記載されていない新しい細胞型すなわちハロー細胞(halo cell)に由来する。この細胞は分泌果粒に暈(halo)を

有する特徴があり、この細胞は正常な下垂体前葉の全細胞数の2~3%を占めるという。彼がハロー細胞と呼んでいる細胞は、すでにわれわれ(Kurosumi and Kobayashi, 1966; Kurosumi and Oota, 1966)がラットでACTH細胞と同一した細胞に類似しており、Dingemans自身がそのことを指摘しているが、彼はこの細胞はACTH細胞ではなくてTSH細胞であるとしている。しかし後に電子顕微鏡レベルの免疫細胞化学が導入されるようになって、拡張した粗面小胞体に槽内果粒を有する典型的な甲状腺摘出細胞にTSH免疫陽性反応が見られ、かつオスミウム単独固定ではハローを示す分泌果粒を含む細胞にACTHの免疫反応が見られる(Kurosumi and Inoue, 1986)に至って、Dingemans(1969)の所説は根拠薄弱となる運命を負った。

Yoshimura *et al.*(1973 a)もまた甲状腺摘出細胞がTSH細胞から生じるのではなく、脱果粒した酸好性細胞に由来すると主張した。彼らは酸好性細胞と記載して、GH細胞とかPRL細胞とは書いてないが、少なくともGH細胞を含んでいると思われる。たしかに甲状腺摘出によってGH細胞の分泌果粒は減少する。しかしGH細胞から甲状腺摘出細胞が生じるという積極的な証拠はない。甲状腺摘出細胞の細胞質の中に少数ながら含まれている分泌果粒は正常なTSH細胞の分泌果粒とほとんど同じ大きさであって、典型的なGH細胞やPRL細胞の果粒のように大きくはない。

しかしYoshimura *et al.*(1973 b)は第2報に次のように発表した。甲状腺摘出後15日に甲状腺ホルモン(サイロキシン)を1~3回注射すると、甲状腺摘出細胞が急速に萎縮し、拡張していた小胞体も小さくなって槽内果粒は消失する。同時に大きな分泌果粒が出現しはじめ、大小の分泌果粒の混在する細胞がみられ、甲状腺摘出細胞から正常状態の酸好性細胞に回復する途中の細胞であると解釈した。しかし後にわれわれ(Kurosumi *et al.*, 1986)が指摘したように、GH細胞にはTSH細胞と区別のつかないような小さい分泌果粒をもったものもあり、また大小の分泌果粒をもつ中間型のGH細胞は雌において特に多数ある。したがって、この問題の解決は免疫電顕法を待たなければならなかったのである。

Wilbur *et al.*(1978)は手術によってラットの

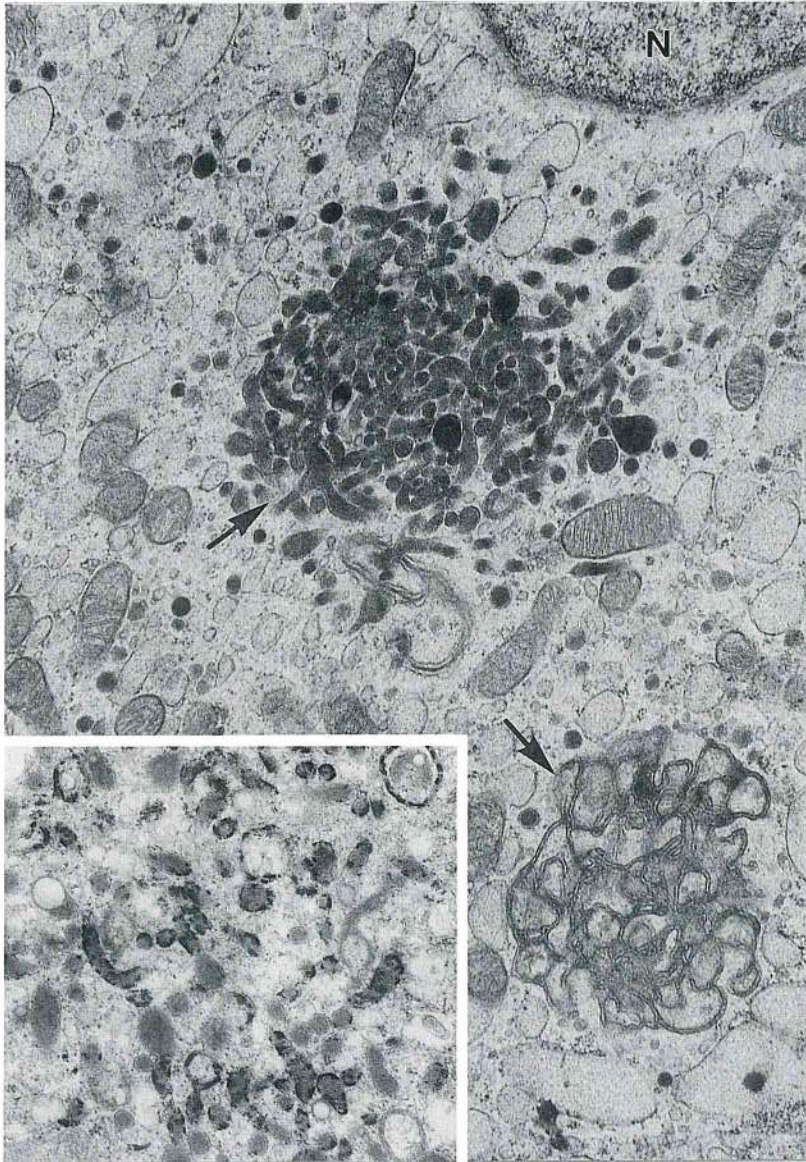


Fig. 4 甲状腺摘出後2週間のラット下垂体TSH細胞（甲状腺摘出細胞）。

N：核，矢印：ゴルジ装置付近のGERLの網状変形（下の矢印）とその内部に暗い物質が貯溜したもの（上の矢印）。

挿入図：GERLに貯溜した物質の酸性ホスファターゼの組織化学的陽性反応（黒い沈殿物）。×18,000，挿入図：×31,000。

下垂体門脈系と前葉を露出し，門脈にカニューレを挿入してTRHを灌流し，経時的に前葉を採取した。TRHの注入によって前葉のTSH細胞は開口分泌による果粒放出と粗面小胞体およびゴルジ装置の拡大を示した。Okino *et al.* (1979)は門脈系ではないが，TRHを全身循環（静脈内）に注入して，経時的に下垂体前葉と甲状腺を電顕的に観

察し，TSH細胞と甲状腺濾胞の形態学的変化を計測した。特にTSH細胞の果粒放出数は注射後10分で最高に達する。多数の果粒が一挙に放出される，いわゆるmultiple granule extrusionが著明である。

3：副腎皮質刺激ホルモン産生細胞（Corticotroph）（ACTH細胞）

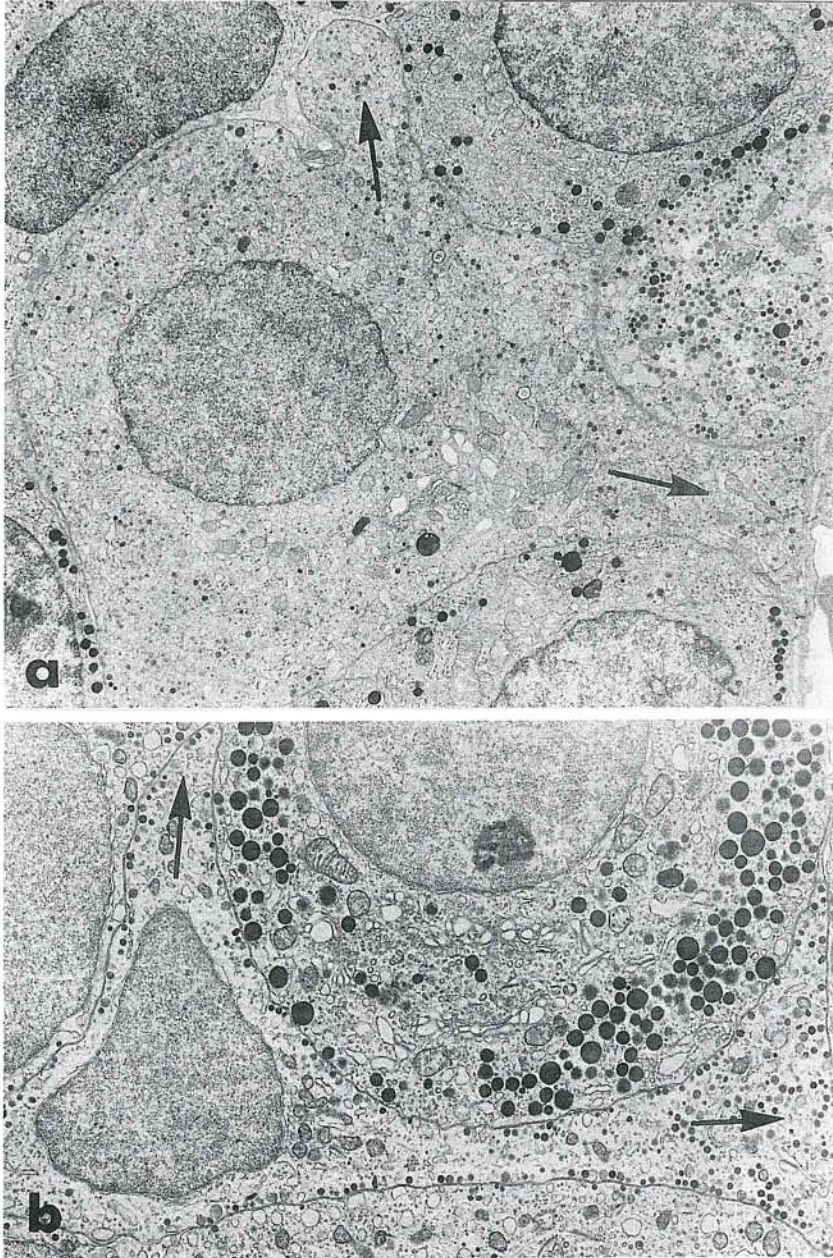


Fig. 5 正常ラット下垂体前葉の ACTH 細胞, 矢印は細胞質突起.

a : I 型 ACTH 細胞, 細胞質は豊富で果粒に満たされており, 突起は短くて太い. $\times 12,000$.

b : II 型 ACTH 細胞, 細胞質は少なく, 突起が細長い, 果粒は細胞膜直下ほぼ 1 列に並ぶ. $\times 7,000$.

Farquhar (1957) が ACTH の産生細胞であろうと仮定した細胞は, 果粒を含まない濾胞細胞であった. 彼女の研究では, cortisone を注射して, 下垂体の ACTH 貯蔵量を増大した時には, 濾胞は

大きくなり, コロイドを多量に持っているが, 副腎の部分摘除のように, ACTH 放出を促進すると, 濾胞は縮小してコロイド量は最低となる. しかし, 濾胞細胞は後に濾胞星状細胞 (folliculos-

tellate cell) と呼ばれた細胞であって、分泌果粒を含まず、ACTH も、その他のホルモンも分泌していないと考えられている。

Rennels (1964) は麻酔をかけたラットにストレスとして熱傷を与え、ACTH の分泌を促した後、下垂体前葉を電子顕微鏡で観察した。しかし、前葉のどの細胞にも著明な脱果粒は認められなかった。熱傷後12~24時間に GH 細胞と TSH 細胞に分泌亢進像と思われる所見があったが、ACTH 分泌との関連は疑わしい。この場合最も著しい変化を示したのは、Farquhar (1957) が ACTH の産生源と考えた無果粒濾胞細胞であって、この細胞の細胞質中に、脂質滴と思われるものが集積する像が認められた。

Siperstein (1963) は先に光学顕微鏡レベルのオートラジオグラフィを用いて、副腎摘出後最も著明にアミノ酸をとりこむ細胞が ACTH を産生する細胞であると同定し、これが大型の色素性細胞に属するとした。彼女はこの細胞を副腎摘出細胞 (adrenalectomy cell) と呼んだが、電子顕微鏡でこの細胞をみると、直径約200nm の分泌果粒をもつ不規則形の細胞で、しばしば突起を出して他の細胞を抱きかかえる。彼ら (Siperstein と Allison, 1965) はこのように副腎摘出細胞を電子顕微鏡的に同定することに成功したが、この時点では副腎摘出細胞に相当する細胞を正常下垂体で発見することは出来なかった。

われわれ (Kurosumi と Kobayashi, 1966) は正常ラットにおいて、従来記載されていなかった前葉細胞を見出した。この細胞は不規則形あるいは突起を出したレトルト形の細胞で、直径150~200 nm の多数の分泌果粒を含む。この分泌果粒の電子密度は変異に富み、しばしば有芯小胞状の外観を呈することに注目した。ラットの両側副腎を摘出すると、この細胞は著明な形態学的変化を来とし、1日後に電子密度の高い果粒が顕著に増える。しかし特徴ある有芯小胞状の果粒も混在している。副摘後3日にゴルジ装置における分泌果粒の新生が著明となり、またこの細胞に有糸分裂もみられた。5日後には果粒の空洞化、開口放出による果粒放出像と粗面小胞体の拡張がみられ、7日後には小胞体から生じた同心円膜構造がみられた。以上の所見からこの細胞が ACTH 産生細胞であり、Siperstein ら (1965) の副腎摘出細胞の正常形に

相当するものであろうと考えた。Kurosumi と Oota (1966) はまた去勢あるいは甲状腺摘出後にこの細胞が変化しないことを示し、この ACTH 細胞は明らかに性腺刺激ホルモン産生細胞あるいは TSH 細胞とは異なることを立証した。

Yamada と Yamashita (1967) はマウスについて、Rennels と Shiino (1968), Costoff (1973) らはラットについて、さきにわれわれが発見した細胞を ACTH 細胞と認めている。

ところが Nakayama, Nickerson と Skelton (1969) は片側副腎摘出等の実験結果から、われわれの ACTH 細胞とは異なった細胞を ACTH 産生細胞であると考えた。この細胞は不規則な形をなして長い突起を出し、細胞質は明るく、直径約200 nm の分泌果粒は細胞膜直下にならんでいる。Siperstein と Miller (1970) は正常あるいは副摘ラットに cortisol を投与し、電顕的観察を行った結果、さきに Nakayama ら (1969) の報告した細胞と同様の細胞を1年遅れて ACTH 細胞として発表したのであるが、われわれの細胞は人工産物を伴った TSH 細胞であると断定しているが、Nakayama ら (1969) の発表は引用していない。これに次いで Pelletier と Racadot (1971) も副腎摘出後のラット下垂体を報告して Nakayama ら (1969) や Siperstein と Miller (1970) の説に賛意を示した。

ここでラットの ACTH 細胞の電子顕微鏡像について、対立する二つの説が現れたのであるが、その解決には電子顕微鏡レベルの免疫細胞化学の結果を待たなければならなかった。その詳細については後述するが、われわれ (Kurosumi と Kobayashi, 1966) の細胞も Nakayama ら (1969) の細胞もともに、免疫電顕法で陽性に反応することが確認されたので、前者を I 型、後者を II 型と呼んだ (Kurosumi *et al.*, 1983, 1984) (Fig. 5 a, b)。

4: 成長ホルモン産生細胞 (Somatotroph) (GH 細胞)

下垂体前葉の電顕的細胞分類の当初から GH 細胞は最も容易に同定された (Rinehart と Farquhar, 1953, Hedinger と Farquhar, 1957, Barnes, 1961)。それは GH 細胞が下垂体前葉で最も数が多く、雄で50~60%、雌で約40%を占めること、分泌果粒が大きく(約350nm)、かつ個々の細胞が多数の果粒を含むことが多いためである。Hedinger

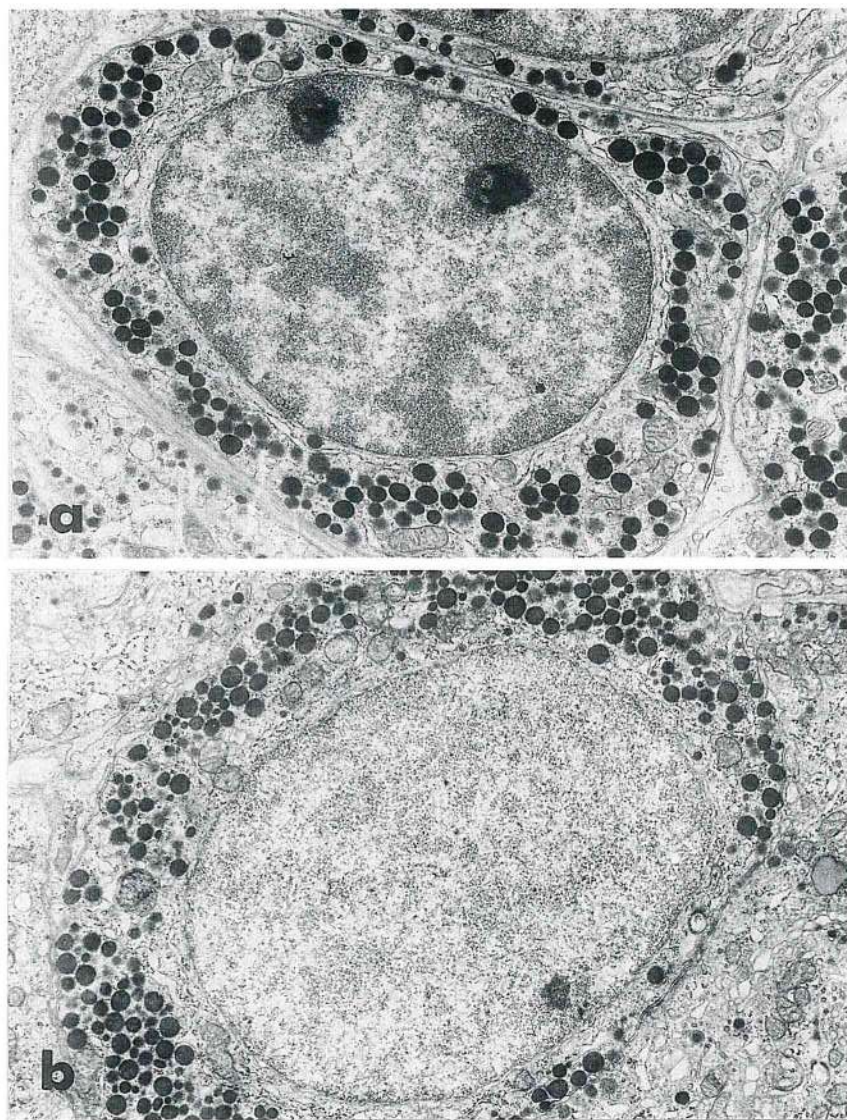


Fig. 6 正常ラット下垂体前葉のGH細胞.

a : I型GH細胞, 分泌果粒は大きく, そろっている. $\times 10,000$.

b : II型GH細胞, 大小の分泌果粒が混在している. $\times 8,000$.

と Farquhar (1957) ははじめて電子顕微鏡で酸好性細胞をGH細胞とPRL細胞に分類した。すなわちGH細胞は直径約350nm前後の球形果粒を多数含んでおり、この特徴は光学顕微鏡で観察される酸好性細胞に酷似している。

RennelsとMcNutt(1958)およびPeterson(1959)は遺伝的「こびと」マウス下垂体前葉を光顕と電顕で観察し、対照マウスに存在する酸好

性細胞が「こびと」にはみられないこと、電顕的には酸好性細胞に特徴的な大型の分泌果粒をもつ細胞が「こびと」マウスにはみられないことを報告した。

Barnes(1963)もCostoff(1973)もGH細胞を2種類に分けている。そのひとつは比較的しばしば遭遇する型で、細胞の一極に平行層板状に配列する粗面小胞体を有し、多数の分泌果粒を含有

する。他のタイプは細胞質が大きく、粗面小胞体とゴルジ装置はともに拡張し、ミトコンドリアも大きい。分泌果粒はむしろ少数である。Costoff (1973) は前者は storage-type であり、後者は active type であるとしている。

筆者 (Kurosumi, 1968) は、分泌果粒の大きさによって GH 細胞を 2 型に分けることが出来ると考えた。ひとつは典型的な GH 細胞で、直径 350 nm 前後の果粒を有するが、もうひとつは大小の果粒を混有する細胞で、大型の果粒は典型的 GH 細胞とほとんど同じ大きさであるが、小型の果粒は 200nm 以下である (Fig. 6 a, b)。

Ishikawa ら (1972) はラット前葉の酸好性細胞を分離し、それから大小 2 種の分泌果粒を分離採取した。大型果粒は直径 300~450nm で、バイオアッセイで GH の生物活性を示した。小型果粒は 100~200nm で、ACTH の活性が認められたが、PRL の活性はどちらの果粒にも認められなかった。Yoshimura ら (1974) は 3 種の酸好性細胞を区別し、第 1 は直径 130~200nm の小さな分泌果粒のみを含む細胞、第 2 は 130~350nm の大小の果粒を含む細胞で、第 3 は約 350nm の大型果粒を含む細胞である。彼らはこれらのうち第 2 あるいは第 3 のタイプは GH 細胞であるが、第 1 の小果粒細胞は ACTH を含むと想像した。これらの研究は免疫電顕的研究法が普及する以前の研究であるので、その真価は免疫細胞化学的に検討しなければわからない。

後述するように筆者ら (Kurosumi *et al.*, 1986) は免疫電顕的に GH 陽性の細胞に 3 種あることを証明した。これは Yoshimura ら (1974) の報告と同様に、小果粒のみを含む細胞、大小 2 種の果粒を含む細胞と大型の果粒のみを含む細胞の 3 種類であるが、Yoshimura らの主張と異なり、これらのいずれの細胞の分泌果粒もすべて免疫電顕的に GH 陽性であり、ACTH の免疫反応は認められなかった。

5 : 乳腺刺激ホルモン産生細胞 (Mammotroph) (PRL 細胞)

光学顕微鏡的細胞分類において乳腺刺激ホルモン産生細胞が酸好性細胞に属することは、古くから知られていた。電子顕微鏡によって、酸好性細胞が塩基好性細胞に比べて大きな分泌果粒を含むことは、光顕像との対比によって明らかになって

いたが、GH 細胞と PRL 細胞の区別は容易ではなかった。

Hedinger と Farquhar (1957) は種々の年齢のラットの種々の生理状態の下垂体を比較して、GH 細胞と PRL 細胞の区別を明確にし、前者は直径約 350nm の球形果粒を有するが、後者は径 700nm にも達することのある大型の楕円形果粒を含み、授乳期以外は小胞体やゴルジ装置の発達は悪いが、授乳中は大型果粒を多数含み、粗面小胞体の発達が極端によくなるので、PRL 細胞に他ならぬとした。

Hymer ら (1961) は授乳中のラットとエストロゲンで処理した雌ラットの下垂体を観察して、両者に機能亢進像があり、粗面小胞体の発達がきわめてよく、約 600nm の分泌果粒を有することを見て、この細胞が PRL を分泌する細胞であると推定した。次の年 Rennels (1962) はラット下垂体の移植実験を行った。すなわち雌のラットの下垂体を摘出して、これを腎被膜下に移植して 18 日後にとり出して電顕観察した。正常下垂体前葉に見られる細胞は一応すべて移植片にも見られるけれども、最も優勢な細胞は次のような特徴を有している。

1) 核は偏心性に位置する、2) 大形で不規則形の分泌果粒、3) よく発達した粗面小胞体。生理学的にこの移植片は PRL を分泌していることが知られているので、上述のような特徴を有する細胞は PRL 細胞であろうと同定された。

このように、Hedinger と Farquhar, Hymer ら, Rennels と、この 3 グループによる初期の電顕的下垂体研究は、すべて一致してラットの PRL 細胞は不規則大形の分泌果粒をもつことを報告している (Fig. 7)。

マウスについては、Barnes (1962) と Sano (1962) (佐野昌雄, 現名古屋大学名誉教授) がそれぞれ同年に発表している。PRL 細胞を Barnes は ϵ -細胞と称し、佐野教授は θ (theta)-細胞と呼んだ。細胞の名称は異なっているが、実質的にはいずれの報告でも、マウスの PRL 細胞はラットの PRL 細胞とほとんど同じ形態学的特徴を有することが報告された。特に佐野教授は PRL 細胞の分泌果粒がゴルジ装置において形成されること、また開口分泌 (exocytosis) によって放出されることを報告した。

ラット、マウスに比べてウサギの下垂体の電顕

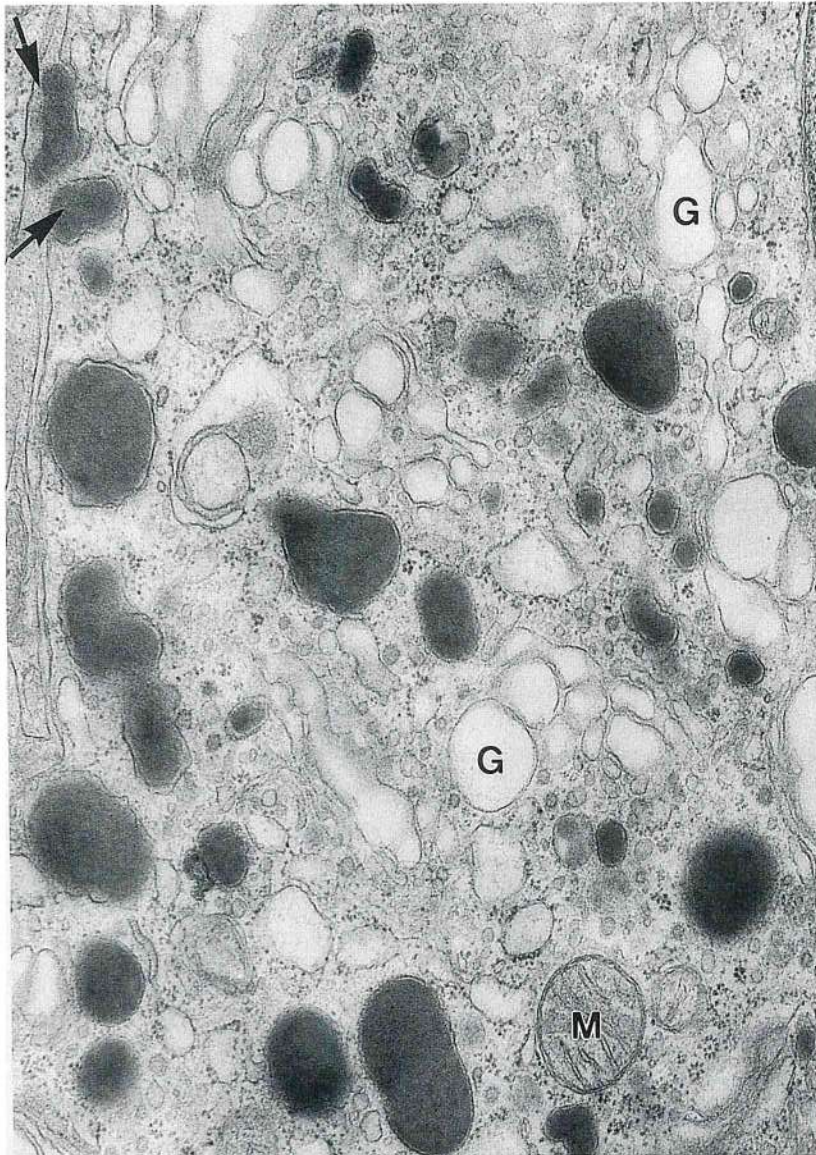


Fig. 7 成熟雌ラットのPRL細胞の一部。大形楕円形あるいは不規則形の分泌果粒が特徴的。

G: ゴルジ装置, M: ミトコンドリア, 矢印: 分泌果粒の開口放出, $\times 30,000$

的研究は少ない。正常なウサギについては Salazar (1963) の詳細な観察があり、酸性細胞に2型を分け、ひとつはGH細胞と目される径380~400nmの分泌果粒をもつ細胞、他はPRL細胞と思われる600~800nmの果粒を含む細胞が見られる。塩基性細胞にも2型があり、TSH細胞と考えられる150nmの果粒をもつ角ばった細胞と、性腺刺激ホルモン産生細胞と思われる280~300nmの果粒をもつ円

い細胞がある。その他に果粒をもたない星状細胞が記載されている。

Youngら(1965, 66, 67)はウサギの下垂体について連続して3報を発表している。第1報では前葉(pars distalis)の果粒細胞を4型に分けているが、機能的対応はまだ出来ていない。第2報(1966)では去勢実験の結果、粗面小胞体が極端に拡張する細胞は190~300nmの果粒を有し、正常

ウサギの Type 3 に一致し、したがってこの細胞は性腺刺激ホルモン産生細胞であろうとした。第3報(1967)において Young らは、妊娠及び授乳中のウサギについて研究し、正常ウサギで Type 1 とした直径550nm に達する果粒をもつ細胞が、妊娠中も授乳中も機能亢進像を示すので、PRL 細胞であると同定した。ラットの場合と同様、この細胞の分泌果粒は時として細長く、不規則形を呈することが多い。また特異な所見として、妊娠期の Type 1 (PRL) 細胞に大形球形の核内果粒を発見している。

Smith と Farquhar (1966) は授乳中のラットから子供を離れた後、下垂体の PRL 細胞を観察すると、多胞小体 (multivesicular body) あるいは暗調小体 (dense body) 内に分泌果粒がとりこまれており、酸性ホスファターゼの組織化学的反応はこれらの小体に陽性であるから、これはライソゾーム (水解小体) であって、過剰に生産された分泌果粒をとりこんで消化することによって、PRL の分泌量を調節する機能を有するとなし、この作用は後に、分泌物貪食 (crinophagy) と呼ばれるようになった (Farquhar, 1977)。

6: 濾胞 - 星状細胞 (Folliculo - stellate cell)

下垂体前葉には分泌果粒を含まない、従ってホルモン産生能はないと考えられる細胞がある。この細胞は同種の細胞が多数集って集団をなし、その中央に内腔を有するふくら状の構造すなわち濾胞をつくる場合があり、濾胞細胞 (follicular cell) と呼ばれた。また同種の無果粒細胞は星型の外形を呈して、分泌果粒をもつ腺細胞 (内分泌細胞) の間に細長い突起を伸ばしていることが多いので、星状細胞 (stellate cell) と呼ばれる。動物の種類によってこのどちらかが主となるが、両者は本来同種の細胞と思われるので、現在一般に濾胞 - 星状細胞と呼ばれている (Fig. 8)。光学顕微鏡標本において色素に染まる細胞内構造としては、分泌果粒が最も優勢であるから、分泌果粒をもたない細胞は色素に染まらない、すなわち色素嫌性細胞であると考えられる。電顕的には少数の分泌果粒があっても、光顕的に色素に染まって見えるほど果粒の数が多くない場合も色素嫌性細胞として分類されることがある。従って光顕的分類における色素嫌性細胞はその範囲が広く、電顕的に無果粒の濾胞 - 星状細胞と、本来果粒をもつ内分泌細胞が

何らかの原因で果粒を失って、きわめて少数の果粒しか含まない細胞とに大別出来る。前者は小色素嫌性細胞 (small chromophobe) と呼ばれ、後者は大色素嫌性細胞 (large chromophobe) と呼ばれることがある。ラットではじめて濾胞細胞を記載したのは Farquhar (1957) であって、彼女は濾胞細胞が ACTH を分泌すると仮定した。またその考えは Rennels (1964) によって踏襲されたが、免疫組織化学が出るようになって否定されてしまった。Nakayama ら (1969) によって発見された ACTH 細胞の II 型は著明な突起を出して星型を呈するが濾胞はつくりえない。もちろん ACTH 細胞は分泌果粒を含んでいるから、ここでいう濾胞 - 星状細胞とは違う。ラットの濾胞 - 星状細胞は不完全ながら濾胞を形成し、時としては細長い濾胞が管状構造を形成することがある (Inoue *et al.*, 1987)。濾胞 - 星状細胞は名のように、濾胞を形成すると同時に長い突起を出して他の細胞を抱きかかえることがある。濾胞細胞はよく発達した接着装置 (junctional complex) で互いに接着しており、濾胞腔に面する表面から微絨毛 (microvilli) が突出している。時として線毛 (cilia) を生ずることもある (Kurosumi, 1968)。

Kagayama (1965) (加賀山学, 現東北大学歯学部教授) はイヌの下垂体前葉で濾胞細胞 (follicular cell) がコロイドを含む濾胞腔を取り囲むと同時に、星状を呈して長い突起を実質細胞の間に伸ばして、デスモゾームで互いに接着して網工をなすことを示した。また加賀山氏は他の研究者と異なり、少数ながら濾胞 - 星状細胞が150~200nm の果粒を含み、濾胞腔に放出する可能性を示唆した。Vila - Porcile (1972) はラットにおいて、加賀山氏と同様に濾胞 - 星状細胞が互いに連結して網工を作ることを主張した。Dingemans と Feltkamp (1972) はマウスにおいて、濾胞 - 星状細胞が前葉と中間部の間にある下垂体腔に面する辺縁細胞 (marginal cell) によく似ていることを報告し、これらの細胞が他の細胞から排泄された老廃物を貪食消化すると考えた。濾胞 - 星状細胞と下垂体腔の辺縁細胞との相似性はラットにおいて、Yoshimura ら (1977, b, c) (吉村不二夫, 現慈恵医大名誉教授), Inoue ら (1987) (井上金治, 群馬大内分泌研助教授) によって、くりかえし指摘されている。吉村教授ら (1977, b) は濾胞 - 星

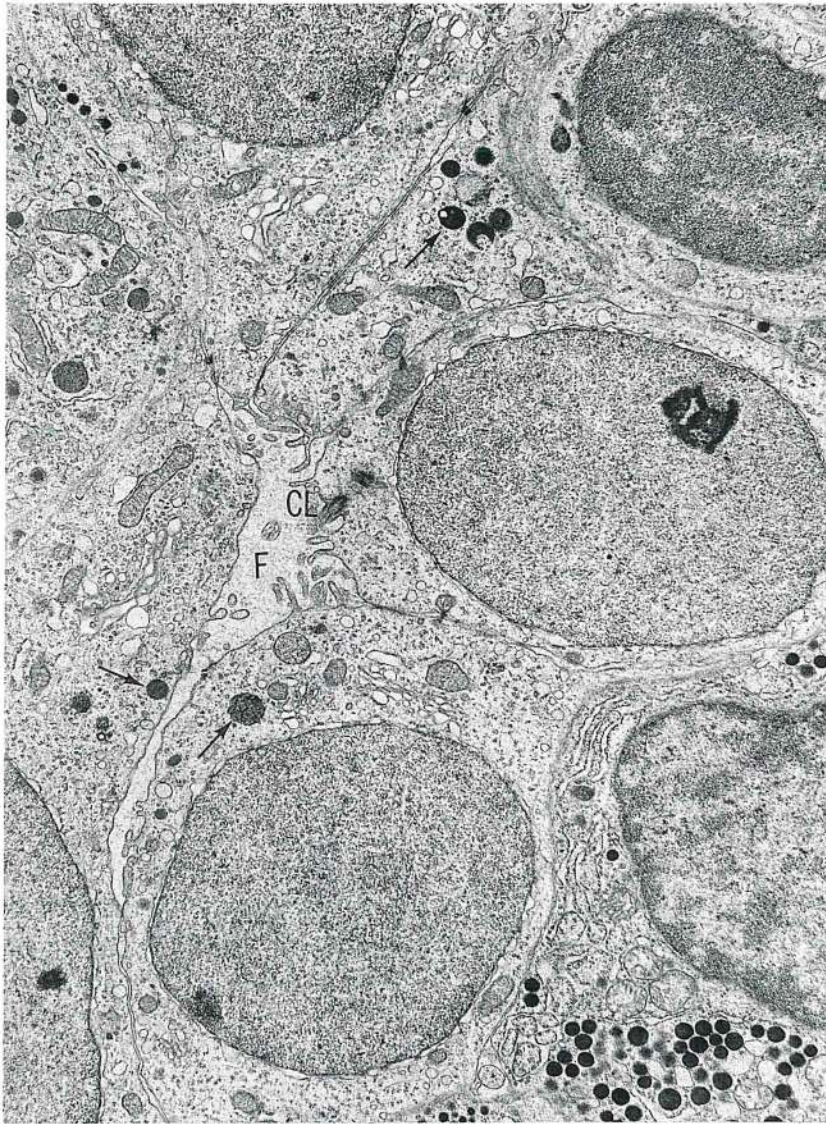


Fig. 8 正常ラット下垂体前葉の濾胞 - 星状細胞群.

F:濾胞腔, CL:線毛根, 矢印:ライソソーム, $\times 7,000$.

状細胞は盛んに細胞分裂して増殖し、果粒をもつように分化するのであって、この点において一種の幹細胞 (stem cell) であると見なしている。

ウサギの下垂体については Salazar (1963), Schechter (1969), Shiotani (1980) らの報告があるが、いずれもラット、マウス等と異なり、濾胞を形成しない純粹の星状細胞 (stellate cell) であり、多量の線維状構造 (filaments) を含むことが多い。Shiotani (1980) (塩谷弥兵衛大阪大教

授) は種々の実験条件下のウサギ下垂体を観察し、腺細胞が機能亢進を示すような条件下では、星状細胞もまた機能亢進を思わせ、よく発達したゴルジ装置や粗面小胞体などを有するようになる。したがって星状細胞は下垂体前葉にあって、単に支持作用を営むのみではなく、前葉の内分泌作用に密接に関連した機能、たとえば内分泌細胞への物質供給やあるいは老廃物の処理等を行うのであろうとした。

免疫組織化学的にラットの濾胞-星状細胞はS-100蛋白を含むことが知られているが (Shirasawa *et al.*, 1983), 最近フィブロネクチンをも有することがわかった (Liu *et al.*, 1989).

3. 免疫組織化学による研究

従来の実験形態学的手法にのみ頼っている、下垂体中のホルモンの局在は直接的には証明されず、したがってホルモン産生能によって下垂体前葉細胞を分類する、機能的分類はあくまで間接的証明に過ぎないということになる。そこである特定のホルモンが「ある特定の細胞に、あるいは細胞内の超微細構造に存在することを直接証明できる方法を、永い年月内分泌腺の形態学者は渴望していた。そのためには、下垂体前葉ホルモンの化学構造が解明され、それぞれのホルモンがある程度大量にかつ純粋に手に入れることが必要となる。これはもちろん生化学者によってなされる領域であり、彼らの努力によってこのことが成功すると、生物学者はこの純化された (あるいは合成された) ホルモンを抗原として、その抗体を作る動物実験にとりかかった。このようにして下垂体ホルモンの抗体が出来ると、この抗体を使って下垂体の顕微鏡標本を染める試みが始まった。すなわち組織切片を抗体の希釈液に浸して、組織内で抗原抗体反応を起こさせる。その反応産物を目で見えるようにする (可視化する) ために、色素等を抗体に、あるいは抗原抗体反応生成物に結合させることに努力した。

最初に用いられた抗体標識物質は蛍光を発するので、紫外線顕微鏡を用いて観察しなければならない (Coons, 1956)。この蛍光抗体法は感度が優れ、非常に有用な方法であったが、標本の染色を永久的に保存することが出来ず、時間がたつと退色する欠点があり、暗視野蛍光顕微鏡ではバックグラウンドが暗く、抗原の局在する細胞の形態を明確に捉らえることが困難である。また電子顕微鏡レベルへそのまま移行することは不可能であるので、この点を改良すべく、NakaneとPierce (1967) (中根一穂長崎大学教授) は酵素抗体法を発案した。彼らはワサビのペルオキシダーゼで抗体を標識し、免疫反応後ペルオキシダーゼをDAB法で発色する。この反応産物は電子顕微鏡でも認識できるので、電顕的免疫組織化学にも応用

されるようになった。

実際の方法には直接法と間接法があり、また変法としてPAP法 (peroxidase-antiperoxidase complex method) (Sternberger *et al.*, 1970) あるいはABC法 (avidin-biotin peroxidase complex method) (HeitzmannとRichards, 1974) などがあり、これらの方が感度がよいので、現在では中根教授の原法よりも広く利用されている。

電顕的免疫組織化学あるいは免疫電顕法 (immunoelectron microscopy) には、免疫反応を超薄切片作製のための樹脂包埋の前にするか、後にするか、あるいは樹脂包埋をしないかによって、包埋前免疫反応法 (pre-embedding method)、包埋後免疫反応法 (post-embedding method)、および無包埋免疫反応法 (none-embedding method) に分ける。無包埋免疫反応法というのは凍結超薄切片法の免疫組織化学への応用である。包埋前免疫反応法にはペルオキシダーゼ抗体法が用いられ、包埋後免疫反応法には酵素抗体法その他、金属標識法とくにフェリチン抗体法と金コロイド法が賞用され、凍結超薄切片にもこれらが多く用いられている。また同一細胞を連続切片で一方を厚く切り光顕的免疫組織化学で染め、もう1枚は薄く切つて通常電顕的標本として電子染色後に電顕観察する方法は、一時期広く行われ、隣接切片対応法 (superimposition method) と呼ばれた。この方法は現在ではほとんど実施されていない。

a. 光顕的免疫組織化学による分類

下垂体前葉ホルモンの局在を免疫組織化学的に検出したのは、Marshall (1951) が最初であり、ブタの下垂体の塩基好性細胞にACTHを証明した。ついでLeznoffら (1960, 1962) はヒトの下垂体でGH (1960) とACTH (1962) を検出した。これらの研究はすべて蛍光抗体法を用いたものであるが、NakaneとPierce (1967) により酵素抗体法 (ペルオキシダーゼ標識法) が発明されるにおよび、その後の光顕的免疫組織化学の主流はこの方法となった。比較的初期の下垂体前葉に関する免疫組織化学的研究の成果はNakane (1968, 1970) とBaker (1970) によってまとめられている。以下主としてNakane (1970) の記載を中心に、若干筆者自身の所見を加えてラットの下垂体

前葉の光顕免疫組織化学的所見を説明する。

(1) GH 細胞

中間部に接する前葉領域と前葉の前腹側部には GH 細胞は非常に少ない。それ以外の領域には平等に分布している。通常類洞に接して分布しており、卵形ないし円錐形をしている。直径10~13 μ mで、核は細胞の中心にあり、細胞質はGHによって充満されている (Fig. 9)。

(2) ACTH 細胞

ACTH 細胞の分布は GH 細胞に似ており、中間部に近い領域と前葉前腹側部には少数の ACTH 細胞のみが見られる。中間部は ACTH 抗体に染色される。Nakane (1970) は ACTH 細胞は星型をなし、突起を伸ばして類洞壁に達していると記載している。これは電顕により Nakayama ら (1969), Siperstein ら (1970) が発見したタイプの ACTH 細胞であって、後に II 型と呼ばれたタイプである。この他やや少数であるが、われわれ (Kurosumi と Kobayashi, 1966) の発見した I 型の ACTH 細胞も光顕免疫組織化学的に認められ、

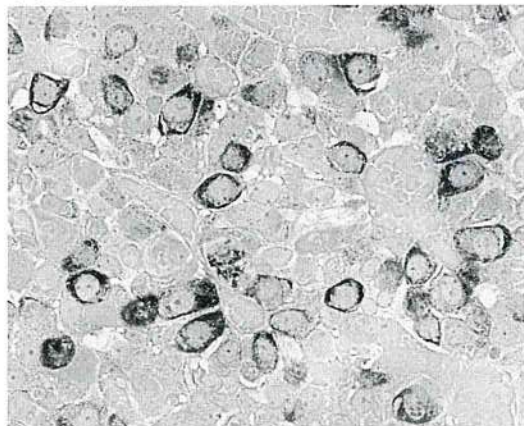


Fig. 9 光顕免疫組織化学標本。

GH 細胞。比較的小さな多角形または類円形の細胞で、細胞質が GH 抗体に反応して濃染する。

こちらはあまり長い突起を出さず多角形を呈するものが多い。ACTH 細胞は GH 細胞と緊密な関係を有し、ACTH 細胞の突起はしばしば隣接する GH 細胞を抱きかかえるように伸びているので、ACTH 細胞の外形は鎌型かまたは三日月型をなすものが多い (Fig. 10)。

(3) PRL 細胞

PRL 細胞も前葉前腹側部には少ないが、GH 細

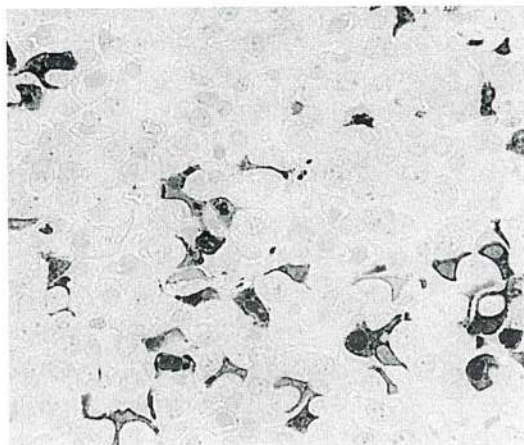


Fig. 10 光顕免疫組織化学標本。

ACTH 細胞。大多数の細胞が星型で長い突起を出し、または鎌形を呈する (II 型 ACTH 細胞)。少数の細胞は細胞質が豊富で多角形を呈する (I 型 ACTH 細胞)。

胞や ACTH 細胞と異なり、PRL 細胞は中間部に近接する領域に多数認められる。PRL 細胞はユニークな形をなし、しばしばカップ状を呈して、大きな卵円形の性腺刺激ホルモン産生細胞 (GTH 細胞) をとり囲んでいる。その後のわれわれの観察では、カップ状の細胞は PRL 細胞の一部に過ぎないことがわかった。光顕免疫組織化学の結果では PRL 細胞の免疫陽性物質 (分泌果粒) は細胞の一極すなわち核の一侧のみに強く集っている。他の前葉細胞では細胞全体が染まると極端に異なっている (Fig. 11)。

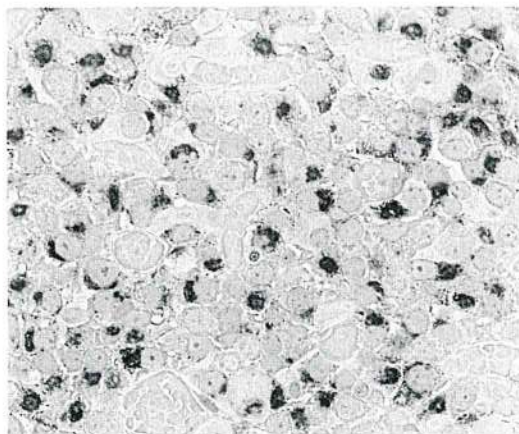


Fig. 11 光顕免疫組織化学標本。

PRL 細胞。各細胞の一極が強く染まっている。

(4) TSH 細胞

他の型の前葉細胞と異なり、TSH 細胞は前葉の中心部にあって、しばしば集塊 (cluster) を作る。TSH 細胞は多角形あるいは星型をなし、ACTH 細胞に似るが ACTH 細胞より細胞質が豊富であると Nakane (1970) は記載している。ここでいう ACTH 細胞は II 型であっても、もし I 型の ACTH 細胞と比較するならば、TSH 細胞の方が細胞質に富むということとはできない。ほとんど同等かあるいは I 型 ACTH 細胞の方が大きな細胞体を有する (Fig. 12)。Nakane (1970) によれば TSH 細胞は類洞壁に直接接触する。

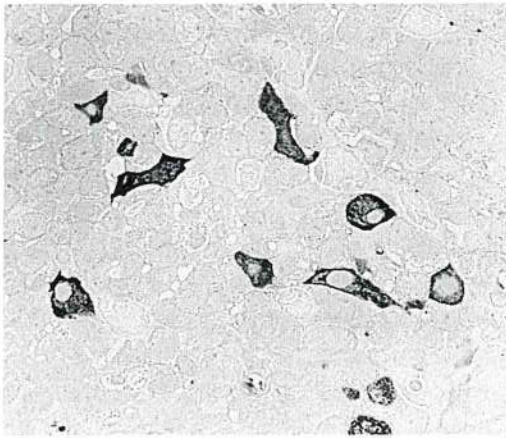


Fig. 12 光顕免疫組織化学標本。

TSH 細胞。出現頻度はやや低い。不規則形あるいは長多角形をなし、角ばったという感じが強い。ACTH 細胞よりも細胞体大きい。

(5) GTH 細胞 (FSH 細胞と LH 細胞)

FSH と LH はしばしば同一の細胞 (GTH 細胞) に含まれている。GTH 細胞は一般に大きく卵円形を呈しており、中間部に近接する部分を含めて前葉の全体に分布している (Fig. 13)。Nakane (1970) によれば、GTH 細胞は前葉前腹側部に集中している。FSH と LH を同時に染色すると、一般的に言って前葉の周辺部に存在する GTH 細胞は FSH と LH を同時にもっているが、前葉中心部の GTH 細胞はどちらか一方のホルモンのみを有するものが多いという。われわれの観察では、大多数の GTH 細胞が FSH と LH の両者を含むが、その含量には差があり、LH を多く含む細胞と FSH を多く含む細胞がある。前者は細胞体が大きく、後

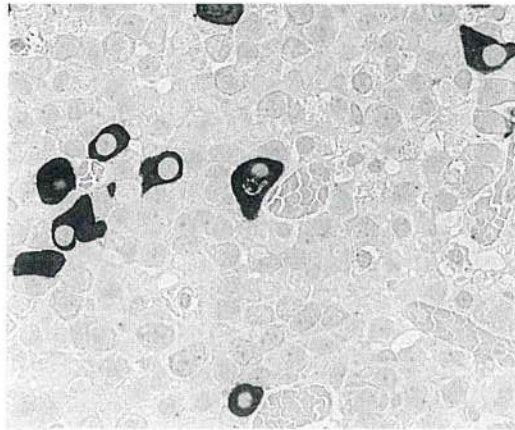


Fig. 13 光顕免疫組織化学標本。

GTH 細胞。出現頻度は TSH 細胞よりもさらに低い。免疫染色には LH β を用いたが、FSH も同時に含まれると思われる。球形、楕円形、多角形等いろいろな形の細胞があるが、一般に円みを帯びている。

者は小さい。Inoue と Kurosumi (1984) は前者を LH-rich cell、後者を FSH-rich cell と呼んだ。

Moriarty と Garner (1977) は FSH と ACTH を共有する細胞があると報告したが、Inoue と Hagino (1984) はこれに反対している。彼らは若いラットの前葉に、LH β に対する抗体によるのみ染色し、FSH β 抗体には染まらない、角ばった形の細胞を発見した。この細胞は外形は ACTH 細胞に似ているが、ACTH に対する抗体では染まらない。またいろいろな年令のラットにおいて、ACTH 免疫陽性の細胞は FSH β 抗体にも LH β 抗体にも反応しないことを確かめた。

b. 電顕的免疫組織化学 (免疫電顕法) による分類

前述のように酵素抗体法は光顕と電顕の両者に利用できるもので、まずこの方法を用いた電顕免疫組織化学が下垂体前葉に応用され、いくつかの報告が発表された。そのようなワサビのペルオキシダーゼを用いた免疫電顕的研究の結果は Nakane (1970) と Moriarty (1973) の 2 つの綜説にくわしく書かれている。エボンに包埋した超薄切片の上で免疫反応を行う方法は Kawarai と Nakane (1970) によって発表され、このいわゆる包埋後免疫反応法は Moriarty と Halmi (1972) によって、

PAP法を応用して広く用いられるようになった。しかし、Kawarai (1980, 1981) (瓦井康之現金沢医大教授) は、Moriarty らの賞用しているこの方法は、免疫の特異性において疑わしい点があり、かつ超微細構造の保存が充分でないとして却け、厚いエポキシ切片を光顕免疫組織化学で染め、隣接する薄い切片を通常の電顕試料として観察する隣接切片対応法を好んで利用した。吉村教授らもこの方法を主として用い、前述の綜説 (吉村, 1984) を完成した。マウスの下垂体については、この方法で Sasaki と Iwama (1988) が最近 GH と PRL 細胞を詳細に観察している。われわれの研究室では、主として金属標識抗体 (フェリチンあるいは金コロイド法) を用いて、光顕との対応ではなく、直接電顕下に免疫反応を見ることを進め、以下述べるような、いくつかの所見を得た。その中間報告は Kurosumi と Inoue (1986) および Kurosumi (1987) の 2 つの綜説として発表した。

筆者らは免疫電顕的研究の結果、同じ抗体に反応する前葉細胞に形態学的に異なった 2~3 種類の型が区別できる時には、それらを発見の順に番号をつけて呼んだ。当然 I 型は古典的な電顕研究の結果古くから知られたタイプであり、通常大きな分泌果粒をもつ。II 型は最も新しく発見された細胞で、免疫電顕的研究の結果はじめて見つかったタイプであり、多くの場合最も小さな分泌果粒をもつ。II 型は上記 2 種の間中型で、大小の果粒を混在するか、あるいは中間の大きさの果粒をもつ細胞である。このような発見順に番号をつける分類法は PRL 細胞 (小山, 1985, Kurosumi *et al.*, 1987), GH 細胞 (Kurosumi *et al.*, 1986; Kurosumi and Tosaka, 1988), ACTH 細胞 (Kurosumi *et al.*, 1983; Kurosumi, 1986) などで行われた。ところが同じ細胞を別の番号の付け方で呼ぶ学者があり、また ACTH 細胞では発見の順が果粒の大きさの順と一致せず、PRL や GH の細胞と規を一にしない。

そこで最近われわれは下垂体前葉細胞の発生学的研究の結果から、果粒の小さい細胞 (多くの場合上述の III 型) が最も早くから現れること、生後日数がたつにつれて、中間の大きさの果粒をもつ細胞が出現し、成熟するに及んで大型の果粒をもつ古典的細胞 (I 型) が最多となることが明らかとなったので、発生学的立場から未熟型 (im-

mature type), 中間型 (intermediate type) および成熟型 (mature type) に分類することにした (Kurosumi, 1988; Kurosumi *et al.*, 1988, 1989)。これらの関係をまとめて同一倍率の果粒の電顕写真を並べると Fig. 14 のようになる。未熟型は分泌果粒が最も小さく、中間型は果粒の大きさが中間的であるか、あるいは大小の果粒が混ざっているかであり、成熟型の果粒は最も大きい。番号による従来の名称との対応は個々の写真に書いてある。

〔1〕 PRL 細胞

Hedinger と Farquhar (1957) の発見以来久しく PRL 細胞はすべて不規則大形の分泌果粒をもつ細胞として知られて来たが、Nogami と Yoshimura (1980) は光顕免疫組織化学と電顕の隣接切片対応法を用いて、雄ラットの下垂体に 130~200nm の直径の球形分泌果粒をもつ細胞が PRL 免疫陽性であることを初めて報告し、次いで彼らは第 2 報 (Nogami と Yoshimura, 1982) において PRL 細胞を 4 種に分類した。(1) は前述の小球形果粒をもつ細胞、(2) は 250~300nm の中等大の球形または多形果粒をもつ細胞、(3) は 300~700nm の大形の不規則果粒をもつ細胞、(4) は中等大の果粒をもつカップ状の細胞である。この分類は 1 から 3 までは果粒の大きさを主な指標としているが、2 型が球形果粒と不規則形 (多形) 果粒を混ぜている点は、われわれの分類の考え方と異なる。また 4 型は細胞の多形を指標としているので、1~3 型の分類とは異質である。果粒の形態による分類に従えば、4 型は 2 型の中に含まれると思われる。

一方マウスについては、京大星野一正教授のグループは包埋後免疫反応法による電顕酵素抗体法を用いて、極めて小さな果粒を有する細胞を含めて 3 種の PRL 細胞を発表した (Harigaya *et al.*, 1983)。すなわち I 型は 100nm の径を有する小球形果粒をもつ細胞、II 型は中間径 (150~200nm) の球形果粒を含む細胞、III 型は約 300nm の不規則果粒をもつ細胞である。

筆者の研究室では小山 (1985) がラットの PRL 細胞を金コロイドを用いる免疫電顕法で研究し、成熟雌ラットの PRL 細胞は大部分が Hedinger と Farquhar (1957) の発見した古典的 PRL 細胞であることを認め、これが最初に発見された PRL 細胞であるから I 型と呼び、成熟雄ラットでは中等

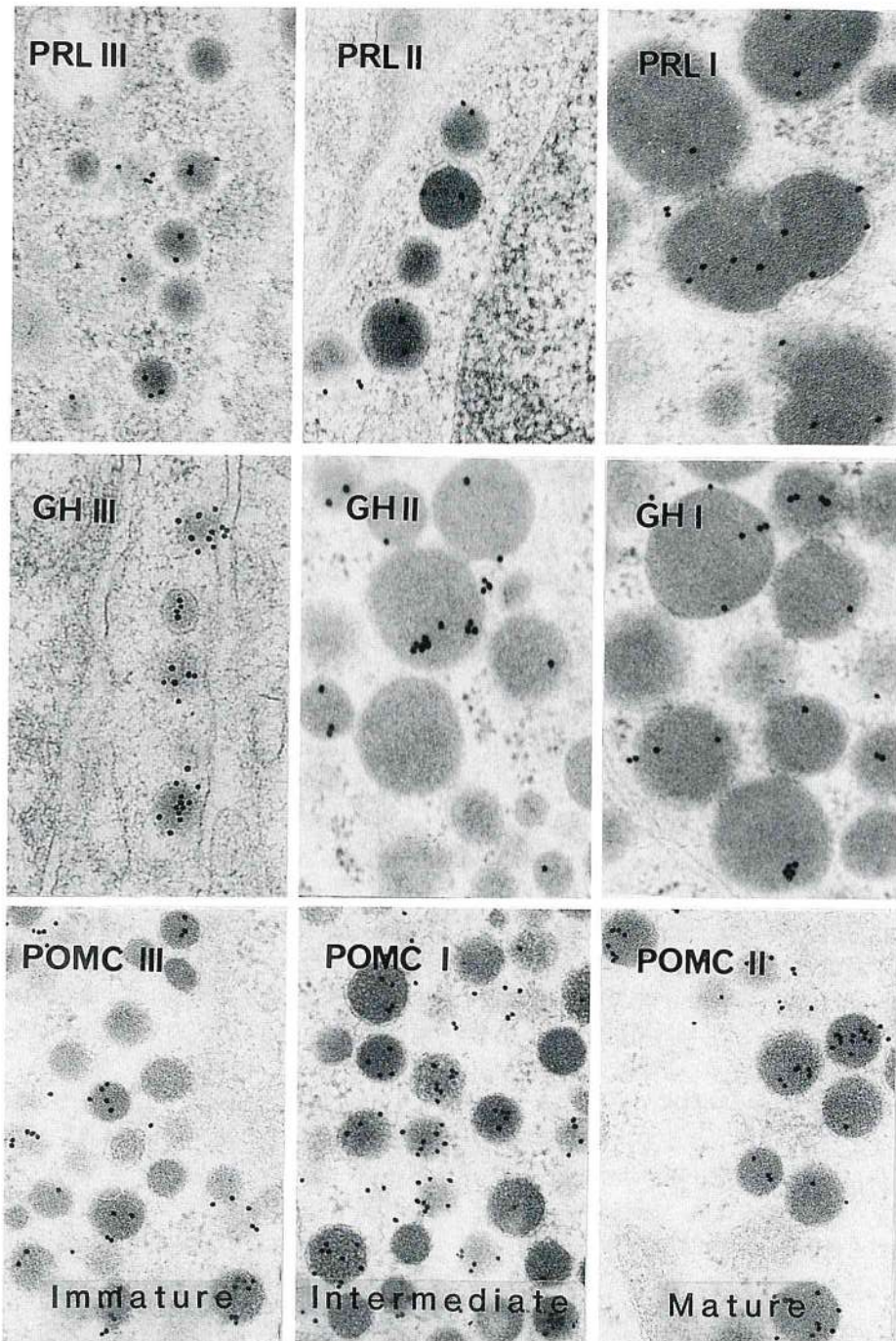


Fig. 14 コロイド金を用いた免疫電顕法で染めた分泌果粒.

PRL, GH, POMC (ACTH) の3種の細胞がそれぞれ3型に分けられる。左の列は未熟型、中間の列は中間型、右の列は成熟型。同一倍率の写真が並べられているので、果粒の大きさの差が分りやすいと思われる。×50,000.

大の球形果粒をもつ細胞が大多数を占めることを認め、これがNogami, Yoshimuraによって第2番目に発見されたのでII型と呼ぶことにした。生後1週間前後の幼若ラットにおいて雄雌ともに大多数を占める極めて小さな果粒(100~150nm)をもつ細胞はIII型と名付けた。これは発見順に番号をつけたものであるが、偶然吉村教授のグループおよび星野教授のグループの命名と全く逆の順になってしまった。

ほとんど同じ頃、Nogami(1984)は性ステロイドのPRL細胞の各型出現頻度に対する影響を研究し、エストロゲンが中間型と成熟型(古典的PRL細胞)の出現頻度を高めることを報告した。一方小山(1985)は雄雌とも性腺を除去(去勢)すると、I型(古典的PRL細胞)が減少して、II型(中間型)が増加する。すなわち雄型になる。これにエストロゲンを投与すると、もとの性がいずれであってもI型が圧倒的に増加して、完全に雌型になる。テストステロンでも程度は低いがI型増加の傾向を示す。これはNogami(1984)の結論に反する。おそらくテストステロンは体内でアロマトラーゼによりエストロゲンに転換して古典的PRL細胞を増加させたのではないかと考えた。

小山(1985), Nogami(1984), KoyamaとKurosumi(1986), HarigayaとHoshino(1985), Kurosumiら(1987)はいずれも出生直後のPRL細胞がほとんど全部小果粒細胞ばかりから成る(雄雌とも全PRL細胞中82~83%)が、成長とともに雄では中等大の球形果粒をもつ細胞が優位を占める(全PRL細胞中48%)ようになり、雌では不規則果粒をもつ古典的PRL細胞が圧倒的多数(全PRL細胞中91%)を占めるようになることを示した。このような発生学的事実からKurosumi(1988)はPRL細胞の分類法を改め、小果粒をもつ細胞を未熟型、中間型の球形果粒をもつ細胞を中間型、大形不規則形の果粒をもつ細胞を成熟型と呼ぶことにした。

雌ラットのPRL細胞はほとんど全部成熟型であるが、この細胞は性周期に伴って変化することが明らかとなった(Poole *et al.*, 1980)。われわれの観察においても、この細胞は発情間期(diestrus)においては機能が低く、粗面小胞体は不規則胞状に分断され、大形の分泌果粒が多いが、これに反し発情期(estrus)には粗面小胞体は非常によ

く発達して、平行層板状あるいは同心円状をなし、分泌果粒は小型不規則形となり、開口分泌を多く見るようになる。この所見からPRL細胞の機能は一般に発情期の前半に亢進しているといえる(Kurosumi *et al.*, 1987)。

SasakiとIwama(1988)は隣接切片対応法によりマウスの下垂体を研究し、PRL細胞を2型に分けて不規則果粒を含む古典的PRL細胞をI型、それ以外PRL免疫陽性細胞をII型とした。II型PRL細胞は小さく球状の果粒(~100~200nm)を含む。成熟雌マウスではI型PRL細胞は全前葉細胞中43.0%を占め、II型PRL細胞は2.1%で、圧倒的にI型細胞が多いが、成熟雄マウスではI型とII型がほぼ同数である。この結果はラットにおけるわれわれの観察とほとんど同傾向である。彼らはまたPRLとGHの両者を含む(両抗体に反応する)細胞を少数(0.6%)発見し、mammosomatotropeと呼んだ。この細胞は常に小球形の果粒を含むという。

このようなPRLとGHの共存については、2, 3の動物でいくつかの報告がある。FumagalliとZanini(1985)は雌ウシの下垂体でGHとPRLが共存する細胞があり、(1)同一細胞に2種のホルモンが検出されるけれども、異なった果粒であるもの、(2)同一の分泌果粒に2種のホルモンが検出されるが、果粒内の異なった部分に局在するもの、(3)同一の果粒内に2種のホルモンを示す異なった大きさの金コロイド粒子が均一に分布しているものの3通りがある。この中、第1のものは多核細胞であることが多いで、細胞の融合によって生じた可能性もある。

Nikitovitch-Winerら(1987)は正常なラット(雄、雌、授乳中の雌)の下垂体前葉に小果粒性のmammosomatotrophが存在し、同一果粒にGHとPRLの両者を示すコロイド金粒子が共存することを報告した。IshibashiとShiino(1988a)はラットの下垂体を前眼房に移植した移植片に大形の不規則果粒と球状果粒の両者を含む細胞があり、前者がPRL、後者がGHに免疫陽性である場合があると報告した。さらにShiinoとIshibashi(1988)(椎野昌隆和歌山医大教授)はスンクス(*Suncus murinus*, L.)でやはり、PRL果粒とGH果粒を共存する細胞があることを報告し、また妊娠中のラットでは、同一果粒にGHとPRLが共

存すると報告している (Ishibashi と Shiino, 1988 b)。

われわれは GH と PRL の同時検出を再三試みたけれども (Kurosumi *et al.*, 1986), これらのホルモンを同一細胞あるいは同一果粒に検出できることはきわめて稀であり, また PRL と GH を大小のコロイド金粒子で染めたときに, 両者が共存するかのように見える場合も, ほとんど皆試料作製の人工産物を疑わせる場合のみであった (Kurosumi, 1988)。

〔2〕 GH 細胞

前述したように GH 細胞が径約350nm の球形果粒を多数含む卵円形の細胞であることは, 下垂体前葉の電顕的研究が始った初めころから知られていたが, その中でこの大形球形果粒ばかりを含む細胞の他に, この大形果粒と150~200nm の小果粒を混在する細胞の存在が知られるようになり, このような大小の果粒をもつ細胞も, その他の特徴が典型的 GH 細胞に似ること, 特にその中の大形果粒が典型的 GH 細胞の果粒と外見上まったく同じであることから, やはり GH 細胞の1種だろうとされて来た (Kurosumi, 1968) (Fig. 6 a, b)。しかし小形果粒のみを含む GH 細胞が存在することは, 免疫電顕的研究が進歩するまでは明らかにならなかったが, われわれはそのような小形果粒のみをもつ細胞が GH 抗体に陽性に反応することを発見し, 第3のタイプの GH 細胞としてIII型 GH 細胞と名付け, 以前から知られていた大形果粒のみから成る GH 細胞をI型, 大小の果粒をもつ GH 細胞をII型と命名した (Kurosumi *et al.*, 1986)。この研究においてわれわれはこの3種の GH 細胞がラットの生後発育と性差に密接に関係していることに気付いた。すなわちI型は成熟雄ラットに最も多く(68%), 成熟雌ラットにおいてはII型が最も多く(47%), さらにIII型は未熟型であって生直後に最も多い(雌雄とも46~48%)。

さらにわれわれ (Kurosumi と Tosaka, 1988) はラット胎児の GH 細胞に観察を進め, 胎生18.5日ではI型はほとんどなく(6%), II型, III型がほぼ同数(45~48%)であるが, III型がやや多いことから, 上述の見解を強め, また胎生期においても GH 細胞は盛んに分泌活動を行っていることを明らかにした。前述したように PRL 細胞において果粒の小さい細胞 (III型) を未熟型, 大小の果

粒を混在する細胞 (II型) を中間型, 大形の果粒を主とする細胞 (I型) を成熟型と名付けたことにならって, 同時に GH 細胞についても同じ分類法を採用した (Kurosumi *et al.*, 1988) (Fig. 14)。

Ishibashi と Shiino (1988 c) は *Suncus murinus*, L.) の GH 細胞にきわめて珍しい形の分泌果粒を発見した。彼らはヒツジの GH に対する抗体を用いてスunks の下垂体を protein A-gold 法で検査し, この特殊な動物の GH 細胞には球形あるいは楕円形の分泌果粒の他に, きわめて長い直線的な針のような分泌果粒が混在しており, いずれも GH 抗体に反応することを見出した。針状あるいは桿状の果粒は球状果粒と同様にゴルジ装置で形成され, 開口方式 (exocytosis) によって放出される。

〔3〕 POMC (ACTH) 細胞

電顕レベルの免疫組織化学が下垂体の研究に導入されるに先立ち, ACTH の産生細胞と目されるいくつか異なった細胞が, 電顕的実験形態学の研究結果から発表されたことはすでに述べた。中でもわれわれ (Kurosumi と Kobayashi, 1966) が発見した細胞と Nakayama ら (1969) が発見し, Siperstein と Miller (1970) その他の研究者によって支持された細胞はいずれが真の ACTH 産生細胞であるか議論的となった。この2つの推定的 ACTH 細胞の中で後者の方が先に免疫組織化学的に ACTH 細胞であると証明されたことは, われわれとしては残念なことであった。すなわち Moriarty と Halmi (1972) は電顕的酵素抗体法により, Bowie ら (1973) はメタクリレート包埋の隣接切片を光顕免疫組織化学と電顕で対比して, いずれも Nakayama ら (1969) の発見したタイプを ACTH 細胞であると同定した。さらに Yoshimura と Nogami (1981) は Bowie らと同様の隣接切片対応法で Siperstein 型と Moriarty 型を含む4型の ACTH 細胞を同定し, その論文の中でわれわれが最初に発見した ACTH 細胞は ACTH 産生細胞ではないと断定したので, われわれの説は甚だ弱くなったかのように見えた。

しかし, われわれは1983, 84年に引続いて2篇の免疫電顕的研究を発表し, その中でフェリチン抗体法, 酵素抗体法 (Kurosumi *et al.*, 1983), protein A-gold 法 (Kurosumi *et al.*, 1984) 等

各種の免疫組織化学的技術を駆使して、ACTH 免疫陽性細胞を追跡した結果、われわれの発見した細胞 (Kurosumi と Kobayashi, 1966) も、Nakayama ら (1969) に知り Siperstein, Bowie, Moriarty, Yoshimura らによって再三にわたり主張された細胞の両者ともに、きわめて明瞭に ACTH 抗体に対して陽性反応を示すことが立証された。さらにわれわれはこの両型ともに副腎摘出によって著明に粗面小胞体とゴルジ装置が肥大し、分泌果粒が減少することを形態計測によって証明した (Kurosumi *et al.*, 1983)。この結果をふまえて、われわれは比較的細胞質に富み、突起が太く短い細胞で分泌果粒を多数含むものを I 型と称し、細胞質が少なく、長く細い突起を出し、やや大きく少数の分泌果粒が細胞表層に並ぶ細胞を II 型と称した (Kurosumi *et al.*, 1983)。これは前者が Kurosumi と Kobayashi (1966) の発見したタイプに相当し、後者が Nakayama ら (1966) の発見したタイプに相当するからである。また後者の方がユニークな星形を呈して目立ちやすく、その出現頻度も高いこと (約 60%)、さらに免疫組織化学的に早くから ACTH 産生細胞と同定されていたことによって、典型的 (typical) ACTH 細胞と呼ばれ、前者の方が先に発見されていたけれども、出現頻度が低く (約 20%)、他の細胞型特に TSH 細胞とまぎらわしいなど特徴に乏しいため、非典型的 (atypical) ACTH 細胞と呼ばれたこともある (Kurosumi *et al.*, 1984, Tanaka と Kurosumi, 1986)。

このようにして免疫電顕法は長い年月争われた ACTH 細胞の超微形態学的同定の問題に「引き分け」の判定を下した形となったが、さらにわれわれは PRL 細胞、GH 細胞において、幼若動物に多く出現する小果粒細胞 (いわゆる III 型) の存在を見出して以来、ACTH 細胞にも同様な小果粒細胞があるのではないかと探ることとなった。そして遂に III 型 ACTH 細胞とも称せられる小果粒性 ACTH 細胞を胎児、新生児その他幼若なラットに発見するにいたった (Kurosumi, 1986)。この細胞を含め 3 種の ACTH 細胞の関係は PRL 細胞、GH 細胞に類似するが、従来呼ばれて来た細胞の番号と分泌果粒の大きさの関係は、GH や PRL 細胞の場合と一致しない。すなわち I 型 ACTH 細胞の果粒は平均 $111.4 \pm 6.7 \text{ nm}$ 、II 型細胞の果粒は

$139.3 \pm 23.1 \text{ nm}$ で、III 型細胞の果粒は $98.6 \pm 8.5 \text{ nm}$ である。発生学的研究の結果 ACTH 細胞の場合も、幼若な果粒が小さく、生後発育に伴って大きくなるという傾向があるので、GH 細胞、PRL 細胞と同一基準に従って、従来の III 型を未熟型、I 型を中間型、II 型を成熟型と呼ぶこととした (Kurosumi *et al.*, 1988, 1989) (Fig. 14)。

ACTH が pro-opiomelanocortin (POMC) と呼ばれる前駆体から processing を経て生ずることは、分子生物学的研究の結果から明らかにされた。ACTH は POMC の中央部にあまるペプチドで、それより N 末端側は N-terminal peptide と呼ばれ、ACTH よりも C 末端側は β -LPH と呼ばれる。ACTH は 2 つに分断されると α -MSH と CLIP となる。ただしこのプロセッシングは中間部細胞では広く起こるけれども、前葉の ACTH 細胞ではほとんど起こらない。 β -LPH が 2 つに分断されると、 γ -LPH と β -endorphin となり、後者の C 末端が少しずつ切れると、 γ -endorphin, α -endorphin 等が生ずる。

これらのペプチドはいずれも共通の前駆体 POMC から生じるので、同一細胞あるいは同一果粒に共存していることが多い。免疫電顕的に POMC 由来のペプチドの共存を報告した論文は多い。主なものを上げると、Pelletier ら (1977) は ACTH と β -LPH が各種の哺乳類で同一細胞の同一果粒に存在することを示した。Vaudry ら (1980) もラットにおいて ACTH, β -LPH, γ -endorphin の共存を報告し、Dacheux (1981) はブタの下垂体で ACTH, β -LPH, α -および β -endorphin が同一果粒に共存することを報告した。N-末端ペプチドの 16K ダルトン-フラグメントの共存については、Weber ら (1979), Guy ら (1980), Pelletier ら (1981), Cantin ら (1983) の報告がある。

これらのペプチドはみなほとんど例外なく同一細胞、同一果粒に ACTH とともに存在するが、 α -MSH は少しその分布を異にしている。Girod と Dubois (1974), Martin ら (1979) は α -MSH が中間部においては、すべての細胞に検出されるが前葉においてはきわめて少数の細胞にしか出現しないことを報告し、Schafer ら (1983) は生後 1~21 日のラット下垂体では約半数の前葉 ACTH 細胞に α -MSH が存在するが、成熟後は前葉には α

-NSH はほとんど認められないと報告した。

われわれ (Tanaka と Kurosumi, 1986) の観察によると, 光顕的に前葉の ACTH 細胞の半分あるいは1/3に α -MSH が検出される。注意深く観察すると, 多角形の細胞体を有する非典型的 ACTH 細胞は, 抗-ACTH と抗- α -MSH の両者に強く染まるが, 細長い突起をもつ典型的 ACTH 細胞は α -MSH 抗体には染まらない。電顕的には I 型 (中間型) POMC (ACTH) 細胞の分泌果粒はほとんど全部 α -MSH に陽性の反応を呈するのに, II 型 (成熟型) では1切片あたり1~2個の果粒のみ α -MSH 陽性となることが明らかとなった。さらに Kurosumi ら (1989) は未熟型細胞の分泌果粒は70~80%が ACTH 抗体に反応するが, 全体の1/5くらいの果粒が α -MSH 陽性であることを観察した。一般に胎児や生直後の前葉細胞のホルモンの抗原性は低く, 包埋後免疫反応法で電顕的に証明することは困難である。凍結超薄切片法や低温重合樹脂包埋等, 従来とは異なった免疫電顕技術を駆用して, くりかえし検査する必要があると思われる。

〔4〕 TSH 細胞

甲状腺摘出によって negative feedback を断った時に, TSH 細胞が異常に肥大して甲状腺摘出細胞 (thyroidectomy cell) となり, 粗面小胞体が拡張して, その中に槽内果粒 (intracisternal granule) が出現することは, すでに電顕研究の初期に Farquhar と Rinehart (1954 b) によって明らかにされた所である (Fig. 15 a)。

しかし甲状腺摘出細胞の起源が TSH 細胞ではなくて, GH 細胞あるいはそれ以外の細胞であるという説が現れて (Dingemans, 1969; Yoshimura *et al.*, 1973 a, b), 真相はなかなか明らかにされなかった。最近われわれは (Kurosumi 1986; Kurosumi と Inoue, 1986) 抗 TSH を用いた免疫電顕的観察の結果, 甲状腺摘出細胞の拡張した粗面小胞体の内腔にたまった物質と, その中に浮遊している槽内果粒の上に TSH の存在を示すコロイド金粒子を認めたので, 甲状腺摘出細胞が他の腺細胞から由来するのではなく, 機能亢進に陥った TSH 細胞に他ならないことが明らかとなった (Fig. 15 b)。

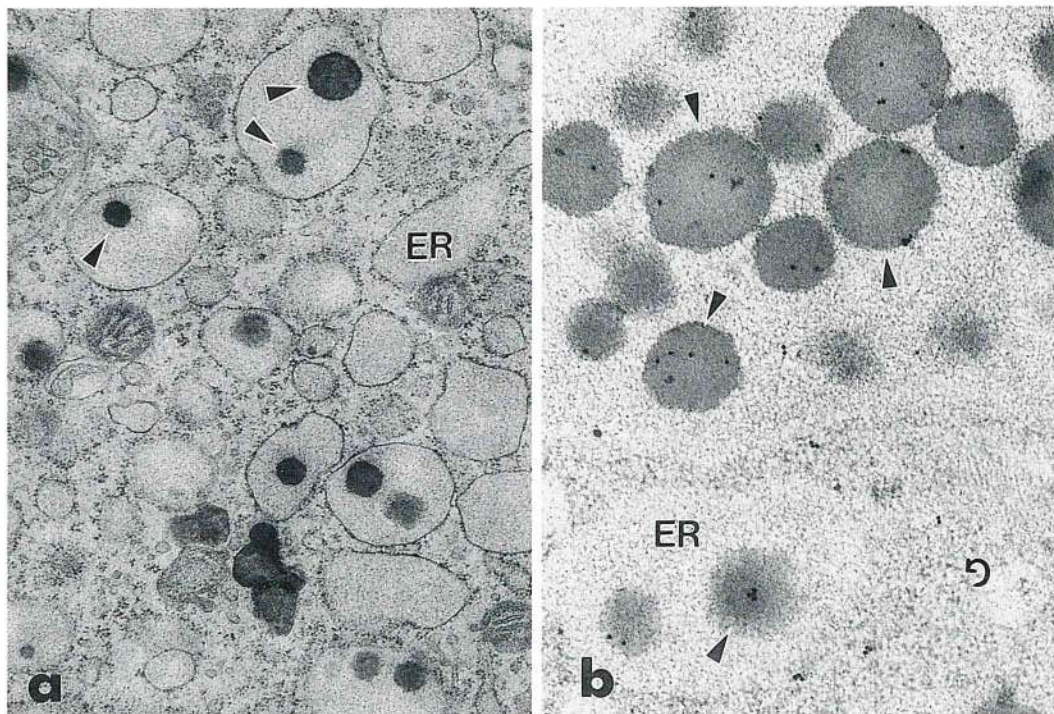


Fig. 15 甲状腺摘出後2~3週間のTSH細胞。

粗面小胞体 (ER) が拡張し, 内部に球形果粒が (矢じり) が出現する。これを槽内果粒という。

a : 通常電顕写真, $\times 220,000$, b : 免疫電顕像, 金コロイド粒子が槽内果粒に集中している, $\times 40,000$ 。

Moriarty (1976), Moriarty と Tobin (1976) は PAP 法を電顕に応用して、ラットおよびヒトの TSH 細胞の免疫電顕的検索を行った。ラットの TSH 細胞は卵円形、星形または角ばった形をなし、分泌果粒は60~175nm であるが、ヒトの TSH 細胞は多角形をなし、150~300nm の果粒は細胞周辺に1~2列に並ぶ場合と、細胞質を満たす場合がある。

吉村教授のグループははじめは純形態学的に塩基好性細胞を5型とその各型の移行型とに分類した (Yoshimura *et al.*, 1977 a)。この分類で I 型は50~100nm の果粒を含む未熟な塩基好性細胞であり、II型は100~150nm の果粒をもつ古典的な TSH 細胞に相当し、II/III型は細胞の周辺に小胞を多く含み、III型は約200nm の果粒をふくみ古典的な LH 細胞に相当する。III/IVは200~250nm の果粒を有し、球形の大きな粗面小胞体を多数含む。IV型は古典的 FSH 細胞に相当し、分泌果粒は約250nm で、不規則に拡張した小胞体を有する。V型は疲弊した塩基好性細胞と考えられる。このように吉村教授が細胞の発達(生後発生)につれて形態学的特徴が変化すると考えた所は、われわれも理解し得る所であるが、TSH細胞からGTH (LH/FSH)細胞へ変化するという考え方には同意できない。

次いで同グループの Yashiro ら (1981) はこの分類を基本として、光顕免疫組織化学と電顕との隣接切片対応法によって発生学的研究を行い、胎生期の TSH 細胞は強く免疫反応を呈するが、生後は逆に反応が弱くなることを認めた。また TSH 細胞は生後3~5日に集団 (cluster) を形成し、その数と大きさは生後10日に最高となる。その後は集団が崩れて単離した細胞となる。Yoshimura の I 型細胞は長い突起を出し、その中で約100nm の果粒が列をなしている。I/II型は100~150nm の果粒を有し、II型は古典的 TSH 細胞で生後10日ではまだ充分には発達していない。

Yoshimura ら (1982) によると、生後60日令では大多数の TSH 細胞は大きな星形を呈する細胞で、100~150nm の果粒を細胞周辺に有し、層板状の粗面小胞体を細胞中心部に含む。その他に150~250nm の果粒を多数ふくむ TSH 細胞があり、細胞体は大きく卵円形であって GTH 細胞に似る。このように TSH 細胞の形態は多様性に富むと報告

した。

Yoshimura ら (1981) は従来の彼らの分類 I ~Vに加えて、A, B の2群に分け、小果粒のみを含む細胞を A-series とし、大小の果粒を含む細胞を B-series とした。これによって塩基好性細胞の分類はさらに複雑の度を加えた。

後年筆者が GH 細胞, PRL 細胞, POMC 細胞等をそれぞれ3型に分類した時 (Kurosumi, 1986) には、TSH 細胞の細分類には成功していなかった。その後抗体価の高い血清を入手できたので、固定法、免疫反応の手技を改良して、TSH 細胞の免疫電顕的同一 (吉村教授らのような光顕との対応法ではない) に成功して、この細胞を発生学的に精査した (Ozawa と Kurosumi, 1989)。その結果 TSH 細胞も他の前葉細胞と同様に3型に分類することが可能となった。すなわち、(1)未熟型は生直後に100%を占める細胞で少数の小形球形果粒 (径約50~100nm) を有する。この細胞型は生後10日頃から激減して成熟ラットでは2~4%に過ぎなくなってしまう。(2)中間型は生後10~20日に最高に達し、分泌果粒の大きさはやや大きくなって80~120nm となり、その数も多くなり細胞小器官もかなりよく発達して来る。(3)成熟型は細胞体も大きくなり、多角形の細胞で、果粒も大きく径120~180nm となり、細胞質に果粒が充満して来る。成熟ラットでは TSH 細胞の70%以上が成熟型である。

TSH 細胞について、われわれの分類と吉村教授らの分類法を対比すると次のようになる。われわれの未熟型は彼らの I 型、われわれの中間型は彼らの I/II型、われわれの成熟型は彼らの II型、II/III A型、III/IV A型に相当する。Yoshimura ら (1982) の報告では200nm を超える果粒をもつ TSH 細胞を記載しているが、Tougaard ら (1980) も TSH 細胞の果粒は常に200nm 以下であると報告している。この点において、われわれは Tougaard らの論文を支持するものである (Ozawa と Kurosumi, 1989)。

〔5〕 GTH 細胞

Barnes (1962) のマウスにおける業績を踏まえて、筆者ら (Kurosumi と Oota, 1968) はラットにおいて GTH 細胞を2型に分け、FSH 細胞と LH 細胞とした。前者は比較的大きな細胞で大小2種 (500~700nm と約200nm) の分泌果粒を有す

るが、後者は約200nmの小果粒のみを有し、しばしば血管に向かう細胞の一極に果粒が多数集合していることが多い。

酵素抗体法によって Nakane (1970) はラットで、Phifer ら (1973) はヒトで同一細胞が LH と FSH を同時に保有することがあると報告した。そこでわれわれは FSH 細胞、LH 細胞という名称は適当でないと考え、従来 FSH 細胞と呼んでいた細胞を I 型 GTH 細胞、LH 細胞と呼んでいた細胞を II 型 GTH 細胞と呼ぶこととした (Kurosumi, 1974; Kurosumi *et al.*, 1976)。

Tougaard ら (1973) はラットの下垂体で LH, LH α , LH β に対する抗体で染色し、2種の GTH (LH) 細胞を区別した。すなわち A 型は大小2種の果粒を有する細胞で、われわれの I 型 (旧 FSH 細胞) に、B 型は小さい果粒のみを有する細胞で、われわれの II 型 (旧 LH 細胞) に相当する。彼女らのグループの次の報告では (Tixier-Vidal *et al.*, 1975), A, B の他に C 型と名付ける極端に小さい果粒 (50~150nm) をもち、LH 抗体に強く染まる細胞を報告している。

Moriarty (1976) もまた GTH 細胞を3型に分類した。彼女の I 型は卵円形で大小の2種の果粒を有する点でわれわれの I 型と名実ともに一致し、Tixier-Vidal の A 型に相当する。Moriarty によれば、この細胞では FSH β と LH β の両方の免疫反応が大型の果粒 (400nm あるいはそれ以上) にのみ強くかつ特異的に現れるという。しかしこれはわれわれの結果 (Inoue と Kurosumi, 1984) とは異なっている。Moriarty の II 型は角ばった、あるいは星形の細胞で多数の200~220nm の小さい果粒のみを含む。この点においても、われわれの II 型あるいは Tixier-Vidal 一派の B 型に一致する。Moriarty の III 型は ACTH 細胞によく似て星形をなし、果粒は細胞周辺に位置する。この細胞は FSH β に対する抗体にだけ反応する。また Moriarty と Garner (1977) は同一細胞が ACTH と FSH β の両者に反応する例を報告した。Tougaard ら (1980) の後の論文では GTH 細胞は A, B 両型の他に ACTH 細胞があり、PAP の包埋後免疫反応法によってのみ LH β あるいは FSH β に反応し、包埋前免疫反応法では出現しないという。Moriarty らは ACTH と FSH の共存を考えているが、Tougaard らは GTH と ACTH の前駆体の間

に何か共通の物があつて、包埋後反応法ではそれが抗体に近づき易くなるかもしれないといっている。

Inoue と Kurosumi (1981) は LH β に対する抗体を用いて、正常および去勢ラットの下垂体を光顕および電顕レベルの PAP 法の免疫組織化学的処置をして観察した。その結果電顕的に3種 (4種にも数えられる) の抗 LH 陽性細胞を見出した。第1は大小の果粒を有する細胞で、大型果粒は LH β に対する反応は弱く、小さい果粒の方が強く反応する (Moriarty, 1976 とは反対)。この型に大きな細胞と小さな細胞があるが、いずれも大小の果粒を有し、Kurosumi の I 型に相当する。第2の型は中間型と呼んだもので、LH 抗体によく染まる小さい果粒のみを有する細胞で、Kurosumi の II 型に相当する。第3の型は細胞体も小さく、果粒はきわめて小さくかつ少数で、細胞の周辺部に散在する。この細胞は正常動物では発見できず、去勢後4週のラットにのみ発見された。細胞質は少なく、核が相対的に大きい細胞で未熟型の細胞といえることができる。これは Tixier-Vidal ら (1975) の C 型に相当するものと思われる。

ラット下垂体前葉では GTH 細胞の形態に雌雄差が著明であり、雄では大小の果粒を有する細胞が多く、1細胞内の大型果粒の数も多い。雌では大型果粒は少なく、小型果粒のみの細胞が稀ではない。

Yoshimura ら (1981) は他の細胞型の研究に用いた同様の光顕・電顕隣接切片対応法によって LH β と FSH の抗体を用いて研究した。吉村教授のかねてからの塩基好性細胞の分類の中で、いわゆる II 型は典型的 TSH 細胞であるが、III 型以降は GTH 細胞であつて、これを AB 2 群に分けて A 群は150~220nm の小果粒のみをもち、B 群は小果粒と大果粒 (350~500nm) が混在する細胞である。彼らは小果粒のみをもつ GTH 細胞すなわち彼らの II/III A あるいは III - A はわれわれの II 型すなわち Kurosumi-Oota の LH 細胞に酷似するにもかかわらず、これとは異なると主張し、Kurosumi-Oota の LH 細胞は小果粒性の PRL 細胞 (Nogami と Yoshimura, 1980) に他ならないと再三強く主張している。しかし、われわれの免疫電顕的観察では、小果粒性 PRL 細胞は確かに存在するが、小果粒のみの細胞は GTH 細胞 (LH 陽性

細胞)にも確かに存在し、後者は明らかにかつての Kurosumi - Oota の LH 細胞と微細形態上なら異なる。したがって Yoshimura ら (1981) の主張はどうにも理解し難いのである。

Inoue と Kurosumi (1984) は I 型 GTH 細胞の大小の果粒はその含有するホルモンに差があるのではないかと考え、LH と FSH の電顕免疫組織化学に努力した。ところが LH β の反応は通常の電

顕切片で成功するが、FSH β の反応はうまくいかない。液体プロパンによる急速凍結置換固定法を行い、置換剤にアルデヒド類あるいはオスミウム等の固定剤を入れず、純アセトンで置換することにして、はじめて成功した。その結果、雄ラットにおいては LH β の局在を示すフェリチン粒子は小型果粒 (250~300nm) に非常に多く乗るが、大型果粒 (500nm 以上) にはほとんど乗らない。

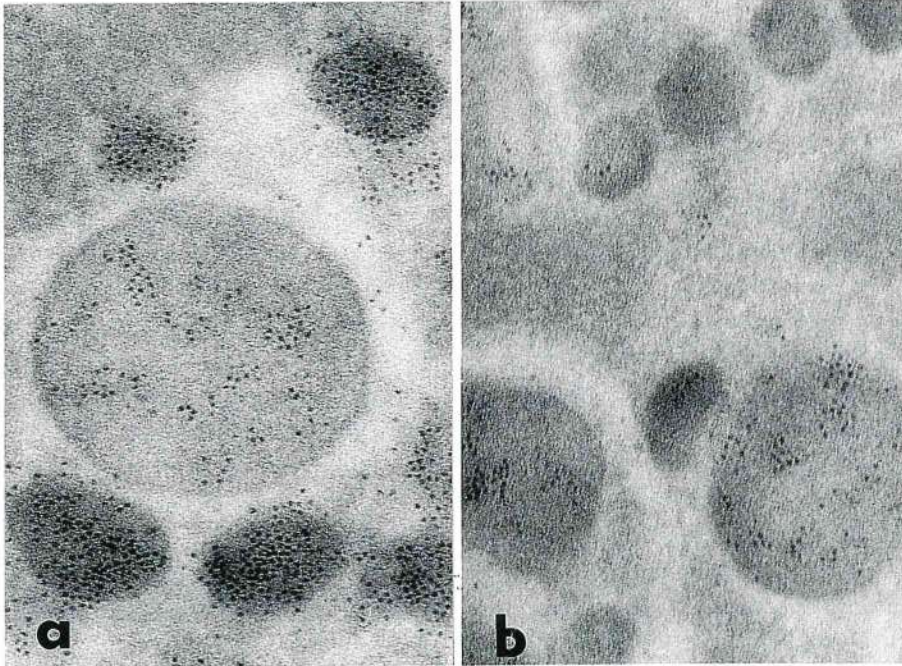


Fig. 16 正常雄ラット下垂体前葉の GTH 細胞，液体プロパンを用いる急速凍結置換固定法で固定し，免疫反応はフェリチンで可視化した。

a : LH β 抗体による反応，LH は小さい果粒に多く，大きい果粒には少ない。

b : FSH β 抗体による反応，FSH は大きい果粒に比較的多く，小さい果粒には少ない。両図とも $\times 100,000$ 。

他方 FSH β の局在を示すフェリチン粒子は逆に大型果粒には多く乗るが，小型果粒にはほとんど認められないことを発見した (Fig. 16 a, b)。そして比較的小さい GTH 細胞はむしろ大型果粒に富み，FSH を多く含むと考えられるので，FSH-rich cell と称し，大きな GTH 細胞は大型果粒が比較的少なく，小型果粒が非常に多いので LH-rich cell と呼んだ。この所見は光顕的免疫組織化学の結果とよく一致する。

先に Tougard ら (1977) はラット胎児の下垂体を観察し，胎生 16 日に初めて GTH 細胞が出現し，この細胞はきわめて小さい果粒 (80~120nm) を含

んでいる。これは Tixier - Vidal ら (1975) が C 型として発表した細胞に一致し，また Inoue と Kurosumi (1981) が去勢後のラットで発見したきわめて小さい果粒をもつ LH 陽性の細胞に相当すると思われる。

Childs ら (1981) (Childs は Moriarty の現在の名前) は，ラットの GTH 細胞の生後発生を研究するために，電顕用の連続切片をそれぞれ LH，FSH，ACTH 等の抗体に反応させて観察した。新生児では 66% が FSH と LH を含み，20% が LH のみ，14% が FSH のみを含む。これは成熟ラットにおける出現率 (75% が LH と FSH の両者，14% が

LHのみ, 11%がFSHのみ)と大差はない。新生児ではGTH細胞の35~80%がACTHの免疫反応を示すが, 正常成体では2~10%のGTH細胞がACTHを含む。未熟なGTH細胞は小さく, 不規則形をなす分泌果粒を含む。これはACTH細胞との区別が難しい。生後1週になると大小の果粒をもつGTH細胞が出現するという。

われわれの研究室においても現在GTH細胞の生後発生を免疫電顕法で検討しているが, FSH β のよい抗体が入手できないので, LH β の抗体のみで検索している。生後間もない時期はきわめて小さい果粒のみをもつ細胞(Tixier-VidalらのC型, InoueとKurosumiの未熟型)がほとんど100%を占めるが, 雌では生後10日ころ大型果粒が著明に現れる。しかし, さらに成長すると大型果粒は極端に減少して, 成体の状態に近づく。雄では生後20日過ぎに大型果粒が出現し, その後減少することはない。この研究は現在進行中であって明瞭なデータはまだまとまっていないが, GTH細胞はFSHとLHの両者を含む細胞と1つのホルモンのみを含む細胞があるという複雑さとともに, FSHのよい抗体が得られないという技術上の問題で, 研究は難行している。

ま と め

下垂体前葉細胞の分類の変遷を, 光顕時代から電顕時代, さらに免疫組織化学時代に免疫電顕の時代と追って来た。研究技術の進歩とともに分類法も二転三転して来ている。しかし細胞分類の根幹は変わらず, 細胞の分泌する主なホルモンの種類によって大きく分類され, 各ホルモンの産生細胞の細分類の基礎となった分泌果粒の大きさは, 動物の発生段階と雌雄差に大きく支配されることがわかった。おそらく老化に伴っても変化すると思われる。腫瘍その他の病変は当然大きな形態学的変化を与えるであろう。

現在の大きな問題は同一細胞で2つ以上のホルモンを分泌する細胞のことで, LHとFSH, GHとPRLの共存は確かに存在するようである。しかし他方単独のホルモン分泌細胞もあるので, 各ホルモンの産生を支配する遺伝子の発現がどうなっているのか。複数のホルモンがゴルジ装置や分泌果粒段階でどのように振り分け(ソーティング)されているのか。また個々のホルモンの分泌の調整は複数のホルモンを分泌する細胞ではどのように行われているのか。これらの問題は今後の下垂体細胞の超微細構造レベルでの細胞生物学に課せられた重要な研究課題であろう。

REFERENCES

- Bailey, P. and Davidoff, L. M. : Concerning the microscopic structure of the hypophysis cerebri in acromegaly. *Am. J. Pathol.* 1 : 185~207 (1925).
- Baker, B. L. : Studies on hormone localization with emphasis on the hypophysis. *J. Histochem. Cytochem.* 18 : 1~8 (1970).
- Baker, B. L., Pek, S., Midgley, A. R. Jr. and Gersten, B. E. : Identification of the corticotropin cell in rat hypophysis with peroxidase labelled antibody. *Anat. Rec.* 166 : 557~568 (1970).
- Barnes, B. G. : Electron microscope studies on the secretory cytology of the mouse anterior pituitary. *Endocrinology* 71 : 618~628 (1962).
- Barnes, B. G. : The fine structure of the mouse adenohypophysis in various physiological states. In : *Benoit, J. and Da Lage, C. ed. Cytologie de l' adénohypophyse, Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, p. 91~109, 1963.*
- Benda, C. : Beiträge zur normalen und pathologischen Histologie der menschlichen Hypophysis cerebri. *Berl. Klin. Wschr.* 37 : 1205~1210 (1900).
- Berblinger, W. und Burgdorff, A. L. : Neue Färbemethode zur Darstellung der Gewebsbestandteile der Hypophyse des Menschen. *Endokrinologie* 15, 381~388 (1935).
- Bowie, E. P., Williams, G., Shiino, M. and Rennels, E. G. : The corticotroph of the rat adenohypophysis : a comparative study. *Am. J. Anat.* 138 : 499~520 (1973).

- Bowie, E. P., Williams, M. G. and Rennels, E. G. : Evidence for PAS positive reaction of the corticotroph granules of the rat adenohypophysis. *Histochemistry* 38 : 281~284 (1974).
- Cantin, M., Ballak, M., Lu, C. L., Seidah, N. G. and Chretien, M. : Corticotropin (ACTH) and the N-terminal fragment of pro-opiomelanocortin are located in the same granules in cells of rat pituitary gland. *J. Histochem. Cytochem.* 31 : 479~487 (1983).
- Childs, G., Ellison, D., Foster, L. and Ramaley, J. A. : Postnatal maturation of gonadotropes in the male rat pituitary. *Endocrinology* 109 : 1683~1692 (1981).
- Costoff, A. : Ultrastructure of rat adenohypophysis, correlation with function. *Academic Press*, New York and London, 1973.
- Coons, A. H. : Histochemistry with labeled antibody. *Internat. Rev. Cytol.* 5 : 1~23 (1956).
- Dacheux, F. : Ultrastructural localization of corticotropin, β -lipotropin, and α - and β -endorphin in the porcine anterior pituitary. *Cell Tiss. Res.* 215 : 87~101 (1981).
- Dawson, A. B. : Some evidence of specific secretory activity of the anterior pituitary gland of the cat. *Am. J. Anat.* 78 : 347~409 (1946).
- Dingemans, K. P. : On the origin of thyroidectomy cells. *J. Ultrast. Res.* 26 : 480~500 (1969).
- Dingemans, K. P. and Feltkamp, C. A. : Nongranulated cells in the mouse adenohypophysis. *Z. Zellforsch.* 124 : 387~405 (1972).
- Dostoiwsky, A. : Ueber den Bau der Vorderlappen des Hirnanhangs. *Arch. mikr. Anat.* 26 : 592~598 (1986).
- Farquhar, M. G. : "Corticotrophs" of the rat adenohypophysis as revealed by electron microscopy. *Anat. Rec.* 127 : 291 (abs) (1957).
- Farquhar, M. G. : Secretion and crinophagy in prolactin cells. In : *Dellmann, H. D., Johnson, J. A. and Klachko, D. M.* ed. Comparative endocrinology of prolactin. *Plenum*, New York, p. 37~94, 1977.
- Farquhar, M. G. and Rinehart, J. F. : Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrate rats. *Endocrinology* 54 : 516~541 (1954 a).
- Farquhar, M. G. and Rinehart, J. F. : Cytologic alterations in the anterior pituitary gland following thyroidectomy : an electron microscope study. *Endocrinology* 55 : 857~876 (1954 b).
- Farquhar, M. G. and Rinehart, J. F. : Further evidence for the existence of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary of the rat. *Anat. Rec.* 121 : 394 (abs) (1955).
- Fernández-Morán, H. and Luft, R. : Submicroscopic cytoplasmic granules in the anterior lobe cells of the rat hypophysis as revealed by electron microscopy. *Acta endocrin.* 2 : 199~211 (1949).
- Flesch, M. : Ueber die Hypophysis einiger Säuger. *Tagebl. 57, Verlag dtsh. Naturforsch. u. Ärzte, Magdeburg, H. 4, S. 195~196, 1884.*
- Fumagalli, G. and Zanini, A. : In cow anterior pituitary, growth hormone and prolactin can be packed in separate granules of the same cell. *J. Cell Biol.* 100 : 2019~2024 (1985).
- Gemelli, A. : Les processus de la sécrétion de l'hypophyse des mammifères. *Arch. ital. de Biol.* 47 : 185 (1907).
- Girod, C. et Dubois, M. P. : Mise en évidence, par immunofluorescence, des cellules corticotropes et des cellules mélanotropes dans l'adénohypophyse du Hamster doré (*Mesocricetus auratus* Waterh.) *C. R. Soc. Biol.* 168 : 751~754 (1974).
- Goldberg, R. C. and Chaikoff, I. L. : On the occurrence of six cell types in the dog anterior pituitary. *Anat. Rec.* 112 : 265~274 (1952).
- Guy, J., Leclerc, R. and Pelletier, G. : Localization of a 16,000-dalton fragment of the common

- precursor of adrenocorticotropin and β -lipotropin in the rat and human pituitary gland. *J. Cell Biol.* 86 : 825~830 (1980).
- Halmi, N. S. : Two types of basophils in the anterior pituitary of the rat and their respective cytophysiological significance. *Endocrinology* 47 : 289~299 (1950).
- Harigaya, T. and Hoshino, K. : Immunohistochemical study of postnatal development of prolactin-producing cells in C57BL mice. *Acta Histochem. Cytochem.* 18 : 343~351 (1985).
- Harigaya, T., Kohmoto, K. and Hoshino, K. : Immunocytochemical identification of prolactin-producing cells in the mouse adenohypophysis. *Acta Histochem. Cytochem.* 16 : 51~58 (1983).
- Hartmann, J. F., Fain, W. R. and Wolfe, J. M. : A cytological study of the anterior hypophysis of the dog with particular reference to the presence of a fourth cell type. *Anat. Rec.* 95 : 11~27 (1946).
- Hedinger, C. E. und Farquhar, M. G. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen von zwei Typen acidophiler Hypophysenvorderlappenzellen bei der Ratte. *Schweiz. Z. allg. Path. Bakt.* 20 : 766~768 (1957).
- Heitzmann, H. and Richards, F. M. : Use of avidin-biotin complex for specific staining of biological membranes in electron microscopy. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 71 : 3537~3541 (1974).
- Herlant, M. : The cells of the adenohypophysis and their functional significance. *Internat. Rev. Cytol.* 17 : 299~382 (1964).
- Hymer, W. C., McShan, W. H. and Christiansen, R. G. : Electron microscopic studies of anterior pituitary glands from lactating and estrogen-treated rats. *Endocrinology* 69 : 81~90 (1961).
- Inoue, K. and Hagino, N. : Comparative immunocytochemical demonstration of ACTH-, LH- and FSH-containing cells in the pituitary of neonatal, immature and adult rats. *Cell Tiss. Res.* 235 : 71~75 (1984).
- Inoue, K. and Kurosumi, K. : Mode of proliferation of gonadotrophic cells of the anterior pituitary after castration — immunocytochemical and autoradiographic studies. *Arch. Histol. Jap.* 44 : 71~85 (1981).
- Inoue, K. and Kurosumi, K. : Ultrastructural immunocytochemical localization of LH and FSH in the pituitary of the untreated male rat. *Cell Tiss. Res.* 235 : 77~83 (1984).
- Inoue, K., Taniguchi, Y. and Kurosumi, K. : Differentiation of striated muscle fibers in pituitary gland grafts transplanted beneath the kidney capsule. *Arch. Histol. Jap.* 50 : 567~578 (1987).
- Ishibashi, T. and Siino, M. : Ultrastructural and immunocytochemical changes of prolactin cells of grafted pituitary after the injection of dopamine in the albino rat. *Acta Anat.* 131 : 66~72 (1988 a).
- Ishibashi, T. and Shiino, M. : Co-localization pattern of growth hormone and prolactin within the anterior pituitary cells in the female rat and female musk shrew. *Acta Anat. Nippon.* 63 : 350 (abs.) (1988 b).
- Ishibashi, T. and Shiino, M. : Unique features of secretory granules observed in the pituitary growth hormone-secreting (GH) cells of the musk shrew (*Suncus musinus* L.). *Cell Tiss. Res.* 251 : 111~116 (1988 c).
- Ishikawa, H., Ohtsuka, Y., Soyama, F. and Yoshimura, F. : Separation of the two different sizes of storage granules with GH or ACTH activity from the pellets of acidophils isolated from rat anterior pituitaries. *Endocrinol. Jap.* 19 : 215~223 (1972).
- Jubb, K. V. and McEntee, K. : Observation on the bovine pituitary gland. I. Review of literature

- on the general problem of adenohypophyseal functional cytology. II. Architecture and cytology with special reference to basophil cell function. *Cornell Veterinarian* 65 : 576~641 (1955).
- Kagayama, M. : The follicular cell in the pars distalis of the dog pituitary gland : an electron microscope study. *Endocrinology* 77 : 1053~1060 (1965).
- Kawarai, Y. : Identification of ACTH cells and TSH cells in rat anterior pituitary with the unlabeled antibody enzyme method on adjacent thin and thick sections. *Acta Histochem. Cytochem.* 13 : 627~645 (1980).
- Kawarai, Y. : Cell identification in rat anterior pituitary with the comparative light- and electron microscopic immunohistochemical technique on adjacent thin and thick sections. *Acta Histochem. Cytochem.* 14 : 376~382 (1981).
- Kawarai, Y. and Nakane, P. K. : Localization of tissue antigens on the ultrathin sections with peroxidase-labeled antibody method. *J. Histochem. Cytochem.* 18 : 161~166 (1970).
- Kiguchi, Y. : The process of development of thyroidectomy cells from the so-called thyrotrophs. *Endocrinol. Jap.* 25 : 75~86 (1978).
- 小山 孝 : コロイド金 - 抗体法によるラット下垂体前葉プロラクチン細胞の免疫電子顕微鏡的研究, *J. Clin. Electron Micr.* 18 : 261~275 (1985).
- Koyama, T. and Kurosumi, K. : An immunoelectron microscopic study of prolactin cells in the anterior pituitaries of the normal, castrated and steroid-treated rats. In : *Hoshino, K.* ed. Kyoto Prolactin Conference Monograph, vol. 1, p. 97~105, *Dept. Anat. Kyoto Univ. Fac. Med.*, Kyoto, 1986.
- Kurosumi, K. : Functional classification of cell types of the anterior pituitary gland accomplished by electron microscopy. *Arch. Histol. Jap.* 29 : 329~362 (1968).
- Kurosumi, K. : Cytochemistry and functional morphology of the Golgi apparatus. *Acta Histochem. Cytochem.* 5 : 242~245 (1972).
- Kurosumi, K. : Adenohypophysis. In : *Kurosumi, K.* and *Fujita, H.* ed. An atlas of electron micrographs : Functional morphology of endocrine glands. p. 1~100, *Igaku-Shoin*, Tokyo, 1974.
- Kurosumi, K. : Cell classification of the rat anterior pituitary by means of immunoelectron microscopy. *J. Clin. Electron Micr.* 19 : 299~319 (1986).
- Kurosumi, K. : Ultrastructural modification in prolactin-producing cells the adenohypophysis during postnatal development and functional variations. In : *Hoshino, K.* ed. Prolactin gene family and its receptors. p. 289~297, *Elsevier Sci. Publ.* Amsterdam, 1988.
- Kurosumi, K. and Baba, N. : Experimental and histochemical studies on the rat pituitary thyrotrophs by electron microscopy. *Gunma Symp. Endocrin.* 6 : 197~210 (1969).
- Kurosumi, K. and Inoue, K. : Surface pits of typical gonadotrophs and castration cells of the rat anterior pituitary suggestive of exocytosis and micropinocytosis. *Arch. Histol. Jap.* 43 : 373~382 (1980).
- 黒住一昌, 井上金治 : 下垂体前葉細胞, 電子顕微鏡, 17 : 114~127 (1982).
- Kurosumi, K. and Inoue, K. : Ultrastructure of anterior pituitary cells. In : *Ganten, D.* and *Pfaff, D.* ed. Morphology of hypothalamus and its connections. Current topics in neuroendocrinology. vol. 7, p. 99~134, *Springer-Verlag*, Berlin, Heidelberg, 1986.
- Kurosumi, K. and Kobayashi, Y. : Corticotrophs in the anterior pituitary glands of normal and adrenalectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* 78 : 745~758 (1966).
- Kurosumi, K. and Oota, Y. : Corticotrophs in the anterior pituitary glands of gonadectomized and thyroidectomized rats as revealed by electron microscopy. *Endocrinology* 79 : 808~814 (1966).

- Kurosumi, K. and Oota, Y. : Electron microscopy of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary glands of persistent estrous and diestrous rats. *Z. Zellforsch.* 85 : 34~46 (1968).
- Kurosumi, K. and Tosaka, H. : Prenatal development of growth hormone-producing cells in the rat anterior pituitary as studied by immunogold electron microscopy. *Arch. Histol. Cytol.* 51 : 193~204 (1988).
- Kurosumi, K., Kawarai, Y., Yukitake, Y. and Inoue, K. : Electron microscopic morphometry of the rat castration cells. *Gunma Symp. Endocrin.* 13 : 221~236 (1976).
- Kurosumi, K., Inoue, K. and Taniguchi, Y. : Evidence for two types of ACTH-secreting cells of the rat anterior pituitary : ultrastructural, morphometric and immunocytochemical studies. *Biomed. Res.* 4, Suppl. 117~134 (1983).
- Kurosumi, K., Taniguchi, Y. and Inoue, K. : Electron microscopic immunocytochemistry by the protein A-gold method of two types of rat anterior pituitary ACTH cells. *Arch. Histol. Jap.* 47 : 279~291 (1984).
- Kurosumi, K., Koyama, T. and Tosaka, H. : Three types of growth hormone cells of the rat anterior pituitary as revealed by immunoelectron microscopy using a colloidal gold-antibody method. *Arch. Histol. Jap.* 49 : 227~242 (1986).
- Kurosumi, K., Tanaka, S. and Tosaka, H. : Changing ultrastructures in the estrous cycle and postnatal development of prolactin cells in the rat anterior pituitary as studied by immunogold electron microscopy. *Arch. Histol. Jap.* 50 : 455~478 (1987).
- Kurosumi, K., Tanaka, S. and Tosaka, H. : Perinatal development of prolactin, growth hormone and proopiomelanocortin cells in the rat anterior pituitary as revealed by immunoelectron microscopy. In : Inoue, S. et al. ed. Regeneration and development. Proc. 6th Internat. Marcus Singer Symp. p. 173~183, Okada Printing Publishing Co. Maebashi, 1988.
- Kurosumi, K., Tosaka, H. and Ijima, K. : The immature type of pro-opiomelanocortin cell of the rat anterior pituitary as observed by immunogold electron microscopy. *Arch. Histol. Cytol.* (in press) (1989).
- Lacour, M. F. : Recherches sur la relation entre les cellules hypophysaires à granulations orangées (cellules ϵ de Romeis) et les phénomènes de lactation. *C. R. Soc. Biol.* 144 : 248~249 (1950).
- Leznoff, A., Fishman, J., Goodfriend, L., McGarry, E., Beck, J. and Rose, B. : Localization of fluorescent antibodies to human growth hormone in human anterior pituitary glands. *Proc. Exp. Biol. Med.* 104 : 232~235 (1960).
- Leznoff, A., Fishman, J., Talbot, M., McGarry, E. E., Beck, J. C. and Rose, B. : The cytological localization of ACTH in the human pituitary. *J. Clin. Invest.* 41 : 1720~1724 (1962).
- Liu, Y. C., Tanaka, S., Inoue, K. and Kurosumi, K. : Localization of fibronectin in the folliculo-stellate cells of the rat anterior pituitary by the double bridge peroxidase-antiperoxidase method. *Histochemistry* (in press) (1989).
- Lothringer, S. : Untersuchungen an der Hypophyse einiger Säugethiere und des Menschen. *Arch. mikr. Anat.* 28 : 257~292 (1886).
- Marshall, J. M. Jr. : Localization of adrenocorticotrophic hormone by histochemical and immunochemical methods. *J. Exp. Med.* 94 : 21~30 (1951).
- Martin, R., Weber, E. and Voigt, K. H. : Localization of corticotropin- and endorphin-related peptides in the intermediate lobe of the rat pituitary. *Cell Tiss. Res.* 196 : 307~319 (1979).
- Moriarty, G. C. : Adenohypophysis : ultrastructural cytochemistry. A review. *J. Histochem. Cytochem.* 21 : 855~894 (1973).

- Moriarty, G. C. : Immunocytochemistry of the pituitary glycoprotein hormones. *J. Histochem. Cytochem.* 24 : 846~863 (1976).
- Moriarty, G. C. and Garner, L. L. : Immunocytochemical studies of cells in the rat adenohypophysis containing both ACTH and FSH. *Nature* 265 : 356~358 (1977).
- Moriarty, G. C. and Halmi, N. S. : Electron microscopic study of the adrenocorticotropin-producing cell with the use of unlabeled antibody and the soluble peroxidase-antiperoxidase complex. *J. Histochem. Cytochem.* 20 : 590~603 (1972).
- Moriarty, G. C. and Tobin, R. B. : Ultrastructural immunocytochemical characterization of the thyrotroph in rat and human pituitaries. *J. Histochem. Cytochem.* 24 : 1131~1139 (1976).
- Nakane, P. K. : Simultaneous localization of multiple tissue antigens using the peroxidase-labeled antibody method : a study on pituitary glands of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 16 : 557~560 (1968).
- Nakane, P. K. : Classification of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* 18 : 9~20 (1970).
- Nakane, P. K. and Pierce, G. B. Jr. : Enzyme-labeled antibodies : preparation and application for the localization of antigens. *J. Histochem. Cytochem.* 14 : 929~931 (1967).
- Nakayama, I., Nickerson, P. A. and Skelton, F. R. : An ultrastructural study of the adrenocorticotrophic hormone-secreting cell in the rat adenohypophysis during adrenal cortical regeneration. *Lab. Invest.* 21 : 169~178 (1969).
- Nikitovitch-Winer, M. B., Atkin, J. and Maley, B. E. : Colocalization of prolactin and growth hormone within specific adenohypophyseal cells in male, female, and lactating female rats. *Endocrinology* 121 : 625~630 (1987).
- Nogami, H. and Yoshimura, F. : Prolactin immunoreactivity of acidophils of the small granule type. *Cell Tiss. Res.* 211 : 1~4 (1980).
- Nogami, H. and Yoshimura, F. : Fine structural criteria of prolactin cells identified immunohistochemically in the male rat. *Anat. Rec.* 202 : 261~274 (1982).
- Nogami, H. : Fine-structural heterogeneity and morphologic changes in rat pituitary prolactin cells after estrogen and testosterone treatment. *Cell Tiss. Res.* 237 : 195~202 (1984).
- Okino, H., Matsui, S., Shioda, S., Nakai, Y. and Kurosumi, K. : Ultrastructural and morphometric studies on the rat pituitary thyrotrophs and thyroid follicular cells following administration of thyrotropin releasing hormone. *Arch. Histol. Jap.* 42 : 489~505 (1979).
- Ozawa, H. and Kurosumi, K. : Postnatal development of thyrotrophs in the rat anterior pituitary as studied by immunogold electron microscopy. *Anat. Embryol.* (in press) (1989).
- Palade, G. E. : Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 2 : 417~422 (1956).
- Pelletier, G. and Racadot, J. : Identification des cellules hypophysaires sécrétant l'ACTH chez le rat. *Z. Zellforsch.* 116 : 228~239 (1971).
- Pelletier, G., Leclerc, R., Labrie, F., Cote, J., Chrétien, M. and Lis, M. : Immunohistochemical localization of β -lipotropic hormone in the pituitary gland. *Endocrinology* 100 : 770~776 (1977).
- Pelletier, G., Leclerc, R., Benjannet, S., Seidah, N. G. and Chrétien, M. : Immunohistochemical localization of γ -melanocyte-stimulating hormone in the rat pituitary gland. *Regulatory Peptides* 2 : 81~89 (1981).
- Peterson, R. R. : Electron microscope observation on the pituitary gland of the dwarf mouse. *Anat. Rec.* 133 : 322~323 (abs) (1959).

- Phifer, R. F., Midgley, A. R. and Spicer, S. S. : Immunohistologic and histologic evidence that follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone are present in the same cell type in the human pars distalis. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 36 : 125~141 (1973).
- Poole, M. C., Mahesh, V. B. and Costoff, A. : Intracellular dynamics in pituitary mammatropes throughout the rat estrous cycle. II. Changes in synthetic and secretory organelles. *Am. J. Anat.* 158 : 15~28 (1980).
- Purves, H. D. and Griesbach, W. E. : The site of thyrotrophin and gonadotrophin production in the rat pituitary studied by McManus-Hotchkiss staining for glycoprotein. *Endocrinology* 49 : 244~264 (1951).
- Purves, H. D. and Griesbach, W. E. : Functional differentiation in the acidophil cells and the gonadotrophic basophil cells of the rat pituitary. *Proc. Univ. Otago Med. Sch.* 30 : 27 (abs) (1952).
- Purves, H. D. and Griesbach, W. E. : The site of follicle stimulating and luteinising hormone production in the rat pituitary. *Endocrinology* 55 : 785~793 (1954).
- Rennels, E. G. : An electron microscope study of pituitary autograft cells in the rat. *Endocrinology* 71 : 713~722 (1962).
- Rennels, E. G. : Electron microscopic alterations in the rat hypophysis after scalding. *Am. J. Anat.* 114 : 71~91 (1964).
- Rennels, E. G. and McNutt, W. : The fine structure of the anterior pituitary cells of the dwarf mouse. *Anat. Rec.* 131 : 591 (abs) (1958).
- Rennels, E. G. and Shiino, M. : Ultrastructural manifestations of pituitary release of ACTH in the rat. *Arch. Anat.* (Strasbourg) 51 : 585 (1968).
- Rinehart, J. F. and Farquhar, M. G. : Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland. *J. Histochem. Cytochem.* 1 : 93~113 (1953).
- Romeis, B. : Hypophyse, In : Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, herausgegeben von W. V. Möllendorff, Bd. 6, 2/III, *Springer-Verlag*, Berlin, 1940.
- Salazar, H. : The pars distalis of the female rabbit hypophysis : an electron microscopic study. *Anat. Rec.* 147 : 469~497 (1963).
- Sano, M. : Further studies on the theta cell of the mouse anterior pituitary as revealed by electron microscopy, with special reference to the mode of secretion. *J. Cell Biol.* 15 : 85 ~ 97 (1962).
- Sasaki, F. and Iwama, Y. : Sex difference in prolactin and growth hormone cells in mouse adenohypophysis : stereological, morphometric, and immunohistochemical studies by light and electron microscopy. *Endocrinology* 123 : 905~912 (1988).
- Schäfer, M., Reiner, J., Geis, R., Voigt, K. H. and Martin, R. : Co-occurrence of immunoreactive corticotropin-like material in pituitary cells : differences between young and adult rats. *Neuropeptides* 3 : 387~397 (1983).
- Schönemann, A. : Hypophysis und Thyreoidea. *Virchow Arch.* 129 : 310~336 (1892).
- Schechter, J. : The ultrastructure of the stellate cell in the rabbit pars distalis. *Am. J. Anat.* 126 : 477~488 (1969).
- Shiino, M. and Ishibashi, T. : Characteristic ultrastructure of prolactin secreting cells in female musk shrews. In : *Hoshino, K.* ed. Prolactin gene family and its receptors, p. 335~339, *Elsevier Sci. Publ.*, Amsterdam, 1988.
- Shiotani, Y. : An electron microscopic study on stellate cells in the rabbit adenohypophysis under various endocrine conditions. *Cell Tiss. Res.* 213 : 237~246 (1980).

- Shirasawa, N., Kihara, H., Yamaguchi, S. and Yoshimura, F. : Pituitary folliculo-stellate cells immunostained with S-100 protein antiserum in postnatal, castrated and thyroidectomized rats. *Cell Tiss. Res.* 231 : 235~249 (1983).
- Siperstein, E. R. : Identification of the adrenocorticotrophin-producing cells in the rat hypophysis by autoradiography. *J. Cell Biol.* 17 : 521~546 (1963).
- Siperstein, E. R. and Allison, V. F. : Fine structure of the cells responsible for secretion of adrenocorticotrophin in the adrenalectomized rat. *Endocrinology* 76 : 70~79 (1965).
- Siperstein, E. R. and Miller, K. J. : Further cytophysiologic evidence for the identity of the cells that produce adrenocorticotrophic hormone. *Endocrinology* 86 : 451~486 (1970).
- Smith, R. E. and Farquhar, M. G. : Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. *J. Cell Biol.* 31 : 319~347 (1966).
- Sternberger, L. A., Hardy, P. H. Jr., Cuculis, J. J. and Meyer, H. G. : The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.* 18 : 315~333 (1970).
- Tanaka, S. and Kurosumi, K. : Differential subcellular localization of ACTH and α -MSH in corticotropes of the rat anterior pituitary. *Cell Tiss. Res.* 243 : 229~238 (1986).
- Thom, W. : Untersuchungen über die normale und pathologische Hypophysis cerebri. *Arch. mikr. Anat.* 57 : 632~652 (1901).
- Tixier-Vidal, A., Tougard, C., Kerdelhue, B. and Jutisz, M. : Light and electron microscopic studies on immunocytochemical localization of gonadotropic hormones in the rat pituitary gland with antisera against ovine FSH, LH, LH α , and LH β . *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 254 : 433~460 (1975).
- Tougard, C., Kerdelhue, B., Tixier-Vidal, A. and Jutisz, M. : Light and electron microscope localization of binding sites of antibodies against ovine luteinizing hormone and its two subunits in rat adenohypophysis using peroxidase-labeled antibody technique. *J. Cell Biol.* 58 : 503~521 (1973).
- Tougard, C., Picart, R. and Tixier-Vidal, A. : Cytogenesis of immunoreactive gonadotropic cells in the fetal rat pituitary at light and electron microscope levels. *Develop. Biol.* 58 : 148~163 (1977).
- Tougard, C., Picart, R. and Tixier-Vidal, A. : Immunocytochemical localization of glycoprotein hormones in the rat anterior pituitary. *J. Histochem. Cytochem.* 28 : 101~114 (1980).
- Vaudry, H., Pelletier, G., Guy, J., Leclerc, R. and Jegou, S. : Immunohistochemical localization of γ -endorphin in the rat pituitary gland and hypothalamus. *Endocrinology* 106 : 1512~1520 (1980).
- Vila-Porcile, E. : Le réseau des cellules folliculo-stellaires et les follicules de l' adénohypophyse du rat (pars distalis). *Z. Zellforsch.* 129 : 328~369 (1972).
- Weber, E., Martin, R. and Voigt, K. H. : Corticotropin / β -endorphin precursor : concomitant storage of its fragments in the secretory granules of anterior pituitary corticotropin / endorphin cells. *Life Sci.* 25 : 1111~1118 (1979).
- Wilbur, D. L., Yee, J. A. and Rague, S. E. : Hypophysial portal vascular infusion of TRH in the rat : an ultrastructural and radioimmunoassay study. *Am. J. Anat.* 151 : 277~294 (1978).
- Wilson, W. D. and Ezrin, C. : PAS metachromasia in the anterior pituitary of man and the Wistar rat. *Anat. Rec.* 115 : 444~445 (1953).
- 山田和麻呂 : 下垂体の分泌細胞, 内分泌のつどい第12集, 協同医書, 東京, 1959.
- Yamada, K., Sano, M. and Ito, T. : A postnatal histogenetic study of the anterior pituitary of the mouse. *Folia Anat. Jap.* 30 : 177~195 (1957).

- Yamada, K. and Yamashita, K. : An electron microscopic study on the possible site of production of ACTH in the anterior pituitary of mice. *Z. Zellforsch.* 80 : 29~43 (1967).
- Yashiro, T., Nogami, H. and Yoshimura, F. : Immunohistochemical study of the postnatal development of pituitary thyrotrophs in the rat, with special reference to cluster formation. *Cell Tiss. Res.* 216 : 39~46 (1981).
- 吉村不二夫 : 下垂体前葉の細胞学 — 生活環と分泌環との相関, 理工学社, 東京, 1984.
- Yoshimura, F. and Ngami, H. : Fine structural criteria for identifying rat corticotrophs. *Cell Tiss. Res.* 219 : 221~228 (1981).
- Yoshimura, F., Harumiya, K., Yachi, H., Soji, T. and Yokoyama, M. : Degranulated acidophils as a possible original source of "thyroidectomy cells" in the rat hypophysis. *Endocrinol. Jap.* 20 : 181~198 (1973a).
- Yoshimura, F., Harumiya, K., Soji, T., Yokoyama, M. and Kumagai, T. : Possible reversion of pituitary "thyroidectomy cells" into their original acidophils in rats. *Endocrinol. Jap.* 20 : 249~261 (1973b).
- Yoshimura, F., Soji, T., Takasaki, Y. and Kiguchi, Y. : Pituitary acidophils with small or medium-sized granules alone in normal and adrenalectomized rats with special reference to possible ACTH secretion. *Endocrinol. Jap.* 21 : 297~316 (1974).
- Yoshimura, F., Soji, T., Kumagai, T. and Yokoyama, M. : Secretory cycle of the pituitary basophils and its morphological evidence. *Endocrinol. Jap.* 24 : 185~202 (1977a).
- Yoshimura, F., Soji, T. and Kiguchi, Y. : Relationship between the follicular cells and marginal layer cells of the anterior pituitary. *Endocrinol. Jap.* 24 : 301~305 (1977b).
- Yoshimura, F., Soji, T., Sato, S. and Yokoyama, M. : Development and differentiation of rat pituitary follicular cells under normal and some experimental conditions with special reference to an interpretation of renewal cell system. *Endocrinol. Jap.* 24 : 435~449 (1977c).
- Yoshimura, F., Nogami, H., Shirasawa, N. and Yashiro, T. : A whole range of fine structural criteria for immunohistochemically identified LH cells in rats. *Cell Tiss. Res.* 217 : 1~10 (1981).
- Yoshimura, F., Nogami, H. and Yashiro, T. : Fine structural criteria for pituitary thyrotrophs in immature and mature rats. *Anat. Rec.* 204 : 255~263 (1982).
- Young, B. A., Foster, C. L. and Cameron, E. : Some observations on the ultrastructure of the adenohiphysis of the rabbit. *J. Endocrin.* 31 : 279~287 (1965).
- Young, B. A., Foster, C. L. and Cameron, E. : Ultrastructural in the adenohiphysis of castrated rabbits. *J. Endocrin.* 35 : 101~106 (1966).
- Young B. A., Foster, C. L. and Cameron, E. : Ultrastructural changes in the adenohiphysis of pregnant and lactating rabbits. *J. Endocrin.* 39 : 437~443 (1967).

COMPUTED TOMOGRAPHY OF THE BRAIN OF JAPANESE MONKEY (*MACACA FUSCATA*)

Takashi MAKITA, Takao OHOMOTO
Satoshi KAGABU and Koichi MAMBA

*Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan*

Kazuo SUZUKI

*Department of Pathology, National Defense Medical College, Tokorozawa City,
Saitama Prefecture, 359 Japan*

Genji SHIBATA

Shibata Hospital, 385 Yada, Yamaguchi City, 753 Japan

[Received for publication : June 15, 1988]

INTRODUCTION

In a series of regional anatomical studies of the Japanese monkey^{5,6,7,8,9)} the brain was recorded by computed tomography (CT) as an aid to reconstruct the three dimensional architecture of the brain from its serial sections.²⁾ Since the human brain and orbits have been previous targets of CT scanning studies,^{3,11)} the conditions of the CT and the preparation of monkey were similar to that of the human.

MATERIALS AND METHODS

Japanese monkeys captured in the mountainous area of Takahashi city in the Okayama prefecture of Japan were inspected under Ketalar anesthesia. A CT (Toshiba TCT80A) was operated at 120kv with 200 mA at peak electric current. Each CT image was recorded for 9 seconds. The spacial intervals between the levels of scanning were 5 mm.

RESULTS

Fig. 1 shows the CT scan levels of the head of an adult male Japanese monkey. A total of 22 levels were recorded. At the level of Fig. 5, the horizontal plane of the brain became visible. The orbits appeared at the levels of Fig. 7 through 11. The radical pattern in Figs. 9 and 10 was due to high differential bone-brain artifacts.^{3,12)} Beyond level 13 (Figs. 13~20), only the cross section of the medulla oblongata was discernible. The sagittal division, visible in Figs. 5 through 8, is the interhemispheric fissure (IHF).

Another series of CT images of cross or crown planes of the same monkey were also recorded but those images were not added to this report because not much information was obtained from them.

DISCUSSION

As mentioned in the CT study of the brains of pig and wild boar,⁹⁾ the present operating condition of CT and the method of preparation of specimens were not adequate to produce a three dimensional reconstruction of the brain inner structure. Suitable bital staining of the brain specimen, for example, would serve as an aid to improve the quality of the CT image for anatomical study. Despite a quantity of CT data were collected about the human brain^{1,4,12,13)} that directly applies to the anatomy of monkey brain, the information obtained in this experiment is not always additional anatomical findings. The size of the monkey brain might be too small to be surveyed in detail with a large scale CT designed for human clinic. However, CT units designed for veterinary usage are commercially available. Trials with such CT units and also with NMR imaging units will be the next phase of this project.

REFERENCES

- 1) Beringer, B. H. , Axel, L., Norman, D., Napel, S. and Redington, R. W. (1981) : Functional imaging of the brain using computed tomography. *Radiol.* 138 : 711~716.
- 2) Brooks, R. A. and Dichiro, G. (1975) : Theory of image reconstruction in computed tomography. *Radiol.* 117 : 561~572.
- 3) Gonzalez, C. F., Grossman, C. B. and Palacios, E. (1976) : *Computed brain and orbit tomography. Techniques and interpretation.* John Willey and Sons, New York, London, Sydney, Toronto. pp. 276.
- 4) Hanaway, J., Scott, W. R. and Strother, C. M. (1980) : *Atlas of the human brain and orbit for computed tomography.* 2nd ed. Warren, H. Green Inc. St. Louis, pp76.
- 5) Makita, T., Shirogane, M., and Kiwaki, S. (1982) : An anatomical record of the Japanese monkey (*Macaca fuscata*) I. Muscle of the trunk, *Yamaguchi J. Vet. Med.* 9 : 27~36.
- 6) Makita, T., Yamoto, T., Ogawa, K., Araki, N., Agawa, H., Sugiura, K., Ueda, H., Kobayashi, K., Hanaki, K., Itagaki, S., and Kiwaki, S. (1984) : Body and organ weights of *Macaca fuscata* and *Macaca cyclops*. *Jap. J. Vet. Sci.* 46 : 385~390.
- 7) Makita, T., Anjiki, T., Goto, H., Hakoi, K., Hirabara, K., Ishida, T., Kakazu, H., Mochizuki, S., Ozuki, K., Sagara, E., Saito, Y., Shimouchi, T., Sone, K., Tominaga, M., Tsuzuki, Y., and Watanabe, M. (1985) : Body and organ weights and the length of intestine of Japanese monkey (*Macaca fuscata*) II. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 12 : 97~100.
- 8) Makita, T. and Terao, S. (1986) : Biochemica and hematological analysis of two troops of wild Japanese monkeys and a troop of capture-born Formosan monkeys. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 13 : 1~10.
- 9) Makita, T., Ishida, T., Tominaga, M., Kagabu, S., Mamba, K., and Shibata, G. (1988) : Computed tomography of the brain of swine and wild boar. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 15 : 49~60.

- 10) Matsui, T., and Hirano, A. (1977) *An atlas of the human brain for computerized tomography*. Igaku Shoin, Tokyo. pp483.
- 11) New, P. F., and Scott, W. R. (1975) : *Computed Tomography of the Brain and Orbit*. Williams and Wilkins, Baltimore.
- 12) Norman, D., Axel, L., Berninger, W. H., Edward, M. S., Cann, C. E., Redington, R. W., and Cox, L. (1981) : Dynamic computed tomography of the brain. Techniques, data analysis and applications. *AJNR* 2 : 1~12.
- 13) Ohta, T., Takakura, K and Matsui, T. eds. (1987) : *Imaging diagnosis of the brain*, Shyu Jyn-Sha, Tokyo. pp264.

ACKNOWLEDGEMENT

Ms. Kathleen DULEN, our English editor, read the manuscript and gave us valuable suggestions. The operation of CT scanner by Mr. Monpei MIYAKE of the Shibata Hospital is highly appreciated by the authors.

日本猿の脳の CT スキャン

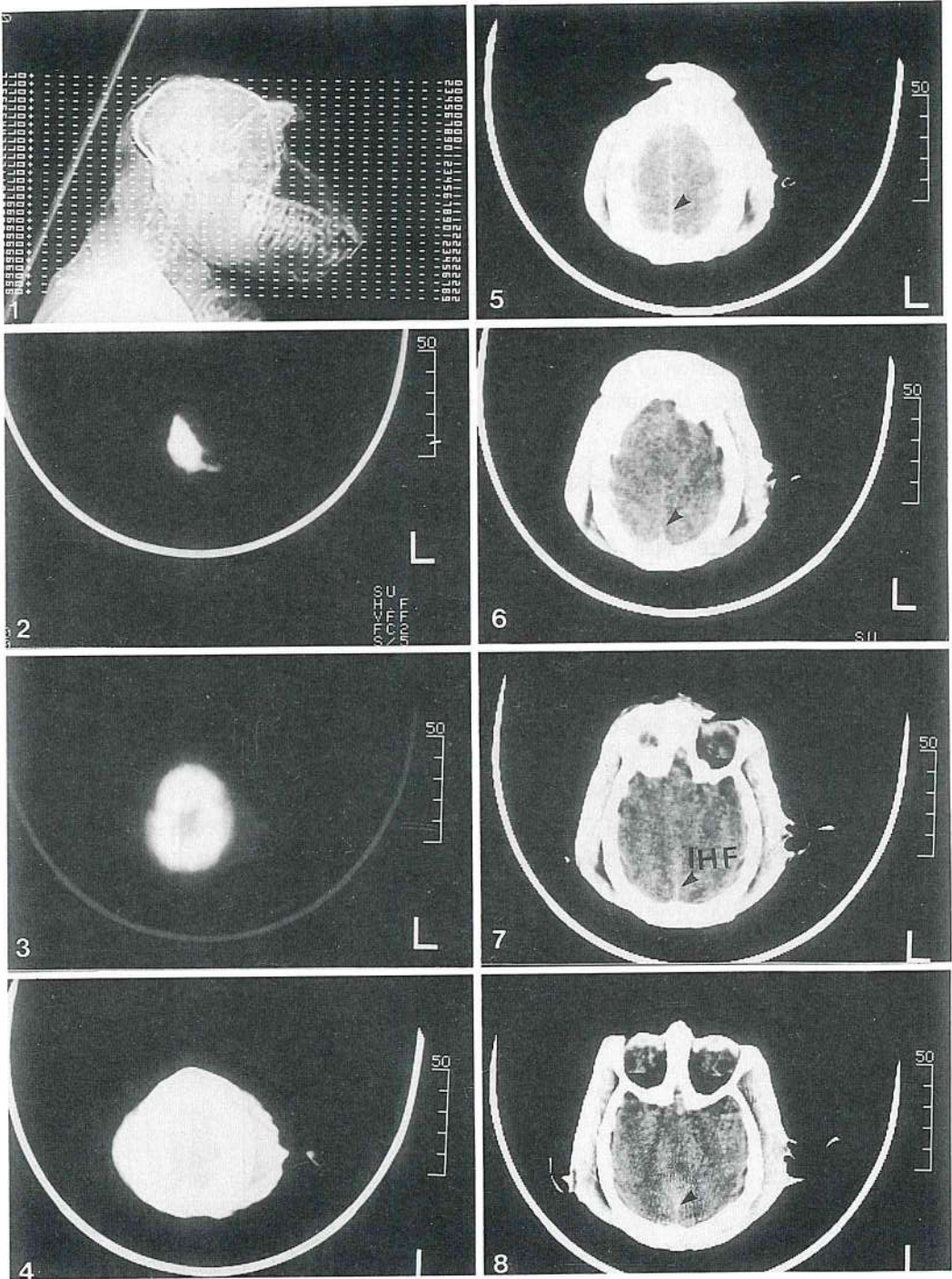
牧田登之・大元隆生・利部 聡・萬場光一（山口大学農学部獣医学科家畜解剖学教室）

鈴木一生（防衛医科大学校病理学教室）

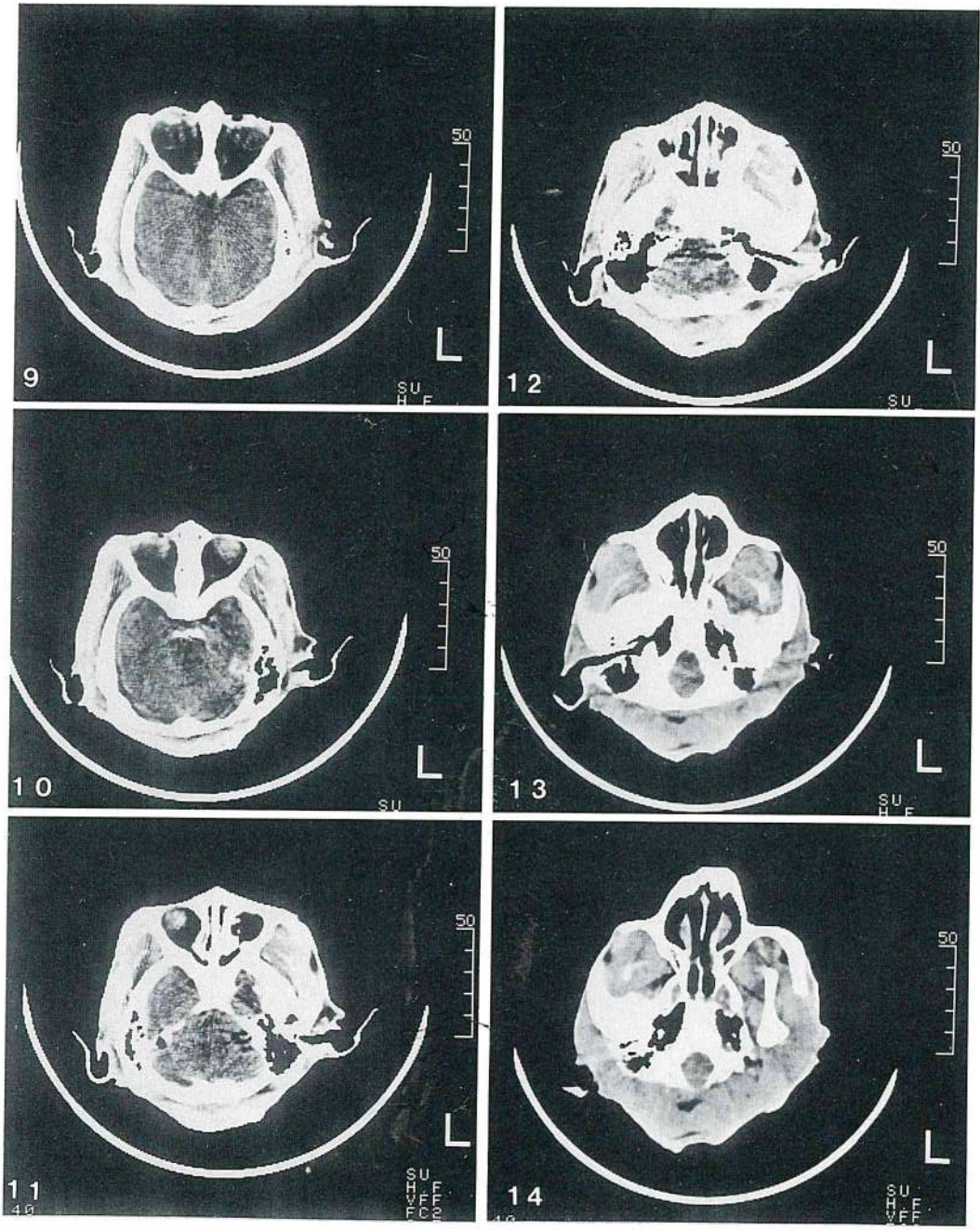
柴田眼治（柴田病院）

〔受付：1988年6月15日〕

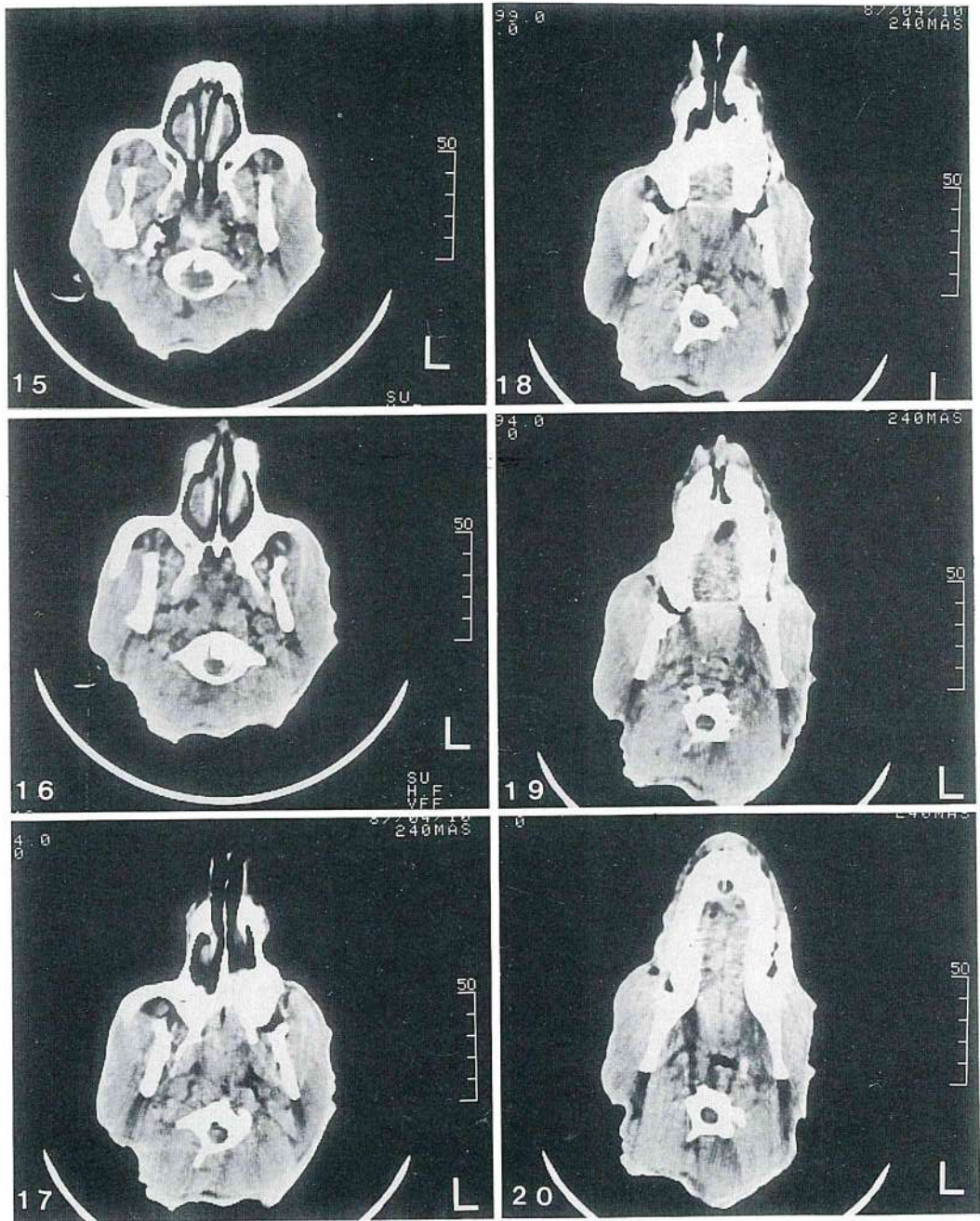
日本猿の解剖の一部として、脳の CT スキャンニングを行った。雄の（10才以上と推定される）日本猿（岡山県高梁市）をネンブタールとケタラルールの麻酔下で、人体用 CT スキャンで水平断面を22段階にわたって記録した。各々の断面の間隔は5 mmであった。ヒトの診断に用いられている CT 像と類似の像が得られたが、これを画像解析装置で処理して、立体像を構築するには不十分であった。動物専用の CT を用いることや、撮影条件を改良することなどを含め、連続像の立体構築までに工夫すべきことが多い。



PL. 1



PL. 2



PL. 3

COMPUTED TOMOGRAPHY OF THE BRAIN OF SWINE AND WILD BOAR

Takashi MAKITA, Tetsuya ISHIDA, Masaya TOMINAGA
Satoshi KAGABU and Koichi MAMBA

*Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan*

Genji SHIBATA

Shibata Hospital, 385 Yada, Yamaguchi City, 753 Japan

[Received for publication : June 15, 1988]

INTRODUCTION

As an extension study of the regional anatomy of swine,^{8,9,10,11)} a cross section of the brain of swine was recorded to obtain a set of fundamental data for the three dimensional structure of the brain¹²⁾. This report is another set of basic data for use in the future to reconstruct, three dimensionally, the brain of swine and wild boar based on their serial sections. Using routine computed tomography (CT scanning), the brains of live swine and that of the formaldehyde fixed heads of wild boar were surveyed.

MATERIALS AND METHODS

Two swine (40 kg and 65 kg) were used for this study, under anesthesia with ketalar and nembutar. Two other heads of adult wild boar, which were previously immersed into formaldehyde for several weeks were also surveyed for comparative anatomy. A TOSHIBA TCT80A was used at 120kv with 200mA at peak electric current. Each CT image was recorded for 9 secs. Measured intervals between the levels of scanning were 5 mm.

RESULTS

1) Cross sections of the swine brain (PL. 1 ~ 3)

As shown in PL. 1-Fig. 1, one of the swine brains was surveyed at a total of 22 levels. Following figures (Figs. 2 ~22) correspond to the levels indicated in Fig. 1. Fig. 14' on PL. 2 is an enlargement of Fig. 14. Similarly Fig. 15' and Fig. 16' on PL. 3 are part of Fig. 15 and Fig. 16, respectively. Even these high powered views of cross sections of hog brain were not sufficient to reveal the inner structure in order to reconstruct its three dimensional image.

2) Horizontal planes of the swine brain (PL.4)

Another set of 23 CT scan images were recorded from each live swine. PL. 4 is composed of 11 serial images to represent the portion of brain. Each level of scanning is shown in Fig. 1 of PL. 4. Only the outline of the brain was confirmed. Some patterns or streaks within Fig. 16 and Fig. 17, for examples, are probably high-differential bone-brain

artifacts.

- 3) Cross or coronal sections of the paraformaldehyde fixed wild boar head. (PL. 5, 6, 7, 8)

The formalin immersed head of an adult wild boar, as shown in PL. 5, Fig. 1, was surveyed at 22 levels with 5 mm intervals. The rest of the figures (PL. 5, Figs. 47, 48, 49 and PL. 6, Figs. 50, 51, 52, 53) were corresponding parts of levels 47-53. The rostral portion of the brain, levels 23 to 42, is included on PL. 7 and levels 43 to 54 were compiled on PL. 8. Figures on PL. 8 included the index figure of the head to indicate the level of scanning.

- 4) Horizontal sections of the paraformaldehyde fixed wild boar head. (PL. 9)

Similar to the other sets of CT scanning images, PL. 9, Fig. 1, illustrates the levels of horizontal scanning of one of the adult wild boar heads. The rest of the 18 figures correspond to those levels. As is the case with the horizontal planes of the swine brain (PL. 4), PL. 9 includes only some serial sections to indicate how others look.

DISCUSSION

Although there are several anatomical atlases of the human brain as references for CT scanning observations and diagnosis of brain diseases,^{1,2,3,4,5,7,13,15,17} anatomy of the brain and CT scan have not been always matched. Our previous report on the gross anatomy of cross sections of swine brain¹²⁾ recorded much more information of the inner structure of the brain than the present study. To establish a basic method of computer aided three dimensional reconstruction of the brain structure from CT scanning images, as mentioned by some anatomists, we have to improve the resolution power of the CT scanning. From a clinical point of view, improvement of the image quality has been proposed by several authors.⁶⁾ For instance, information on blood flow in the brain became apparent when a diffusible tracer (Xenon enhanced CT)¹⁴⁾ or nondiffusible tracer (iodine, Dynamic CT)¹⁶⁾ was utilized. Positron imaging, instead of CT, would be a better choice for recording serial levels of the brain. All of those perspective developments of CT scanning as tools of gross anatomy, remain to be further improved.

ACKNOWLEDGMENTS

The technical assistance of Mr. Monpei MIYAKE to this experiment is highly appreciated by the authors. Ms. Kathleen DULEN, our English editor, greatly improved this manuscript.

REFERENCES

- 1) Berninger, W. H., Axel, L., Norman, D., Napel, S., and Redington, R. W. (1981) : Functional imaging of the brain using computed tomography. *Radiol.* 138 : 711~716.
- 2) Brooks, R. A. and Dichiro, G. (1975) : Theory of image reconstruction in computed tomography. *Radiol.* 117 : 561~572.
- 3) Ford, D. H., Illari, J. and Schadě, J. P. (1978) : Atlas of the human brain. Elsevier / North-Holland Biomedical Press, Amsterdam, New York, Oxford. pp 299.
- 4) Gonzalez, C. F., Grossman, C. B. and Palacios, E. (1976) : *Computed brain and orbital tomography. Technique and interpretation.* John Willey and Sons, New York, London, Sydney, Toronto. pp 276.

- 5) Hanaway, J., Scott, W. R and Strother, C. M. (1980) : *Atlas of the human brain and orbit for computed tomography*. 2nd ed. Warren, H. Green Inc. St. Louis. pp 76.
- 6) Karmer, R. A., Janetos, G. P. and Perlsteis, G. (1975) : An approach to contrast enhancement in computed tomography of the brain. *Radiol.* 116 : 641~647.
- 7) Kretschmann, H-J. und Weinrich W (1984) : *Neuroanatomie der praniellen Computertomographie-Grundlagen und klinische Anwendung*. George Thieme Verlag, Stuttgart.
- 8) Makita, T., Kobayashi, K and Kiwaki, S. (1982) : Regional Anatomy of Swine I. Muscles of the pelvic limb. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 9 : 11~20.
- 9) Makita, T. and Hakoi, K. (1983) : Regional Anatomy of Swine II : Muscle of the thoracic limb. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 10 : 15~34.
- 10) Makita, T. and Goto, H. (1983) : Regional Anatomy of Swine III. Urogenital muscles of the male and female swine. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 10 : 41~46.
- 11) Makita, T, Saito, Y and Watanabe, M (1985) : Regional Anatomy of Swine IV. Lymph Nodes. *Yamaguchi J. Vet. Med.* 12 : 33~58.
- 12) Makita, T. and Tominaga, M. (1987) : Regional Anatomy of Swine V. Cross section of brain of swine (part 1). *Yamaguchi J. Vet. Med.* 14 : 53~70.
- 13) Matsui, T. and Hirano, A. (1977) : *An atlas of the human brain for computerized Tomography*. pp 483. Igaku Shoin, Tokyo.
- 14) Meyer, J. S., Hayman, L. A., Takahira, A., Nakajima, S., Shau, T, Lauzon, P, Derman, S., Karacan, I, and Harati, Y. (1981) : Mapping local blood flow of human brain by CT scanning-during stable xenon inhalation. *Stroke* 12 : 426~436.
- 15) New, P. F. and Scott, W. R. (1975) : *Computed Tomography of the Brain and Orbit*. Williams & Wilkins. Baltimore.
- 16) Norman, D., Axel, L., Berninger, W. H., Edward, M. S., Cann, C. E., Redington, R. W., and Cox, L (1981) : Dynamic computed tomography of the brain, Techniques, data analysis and applications. *AJNR* 2 : 2~12.
- 17) Ohta, T., Takakura, K and Matsui, T. ed. (1987) : *Imaging Diagnosis of the brain*. (in Japanese) Shyu Jyn-Shya, Tokyo, pp 264.

豚と猪のCT スキャン

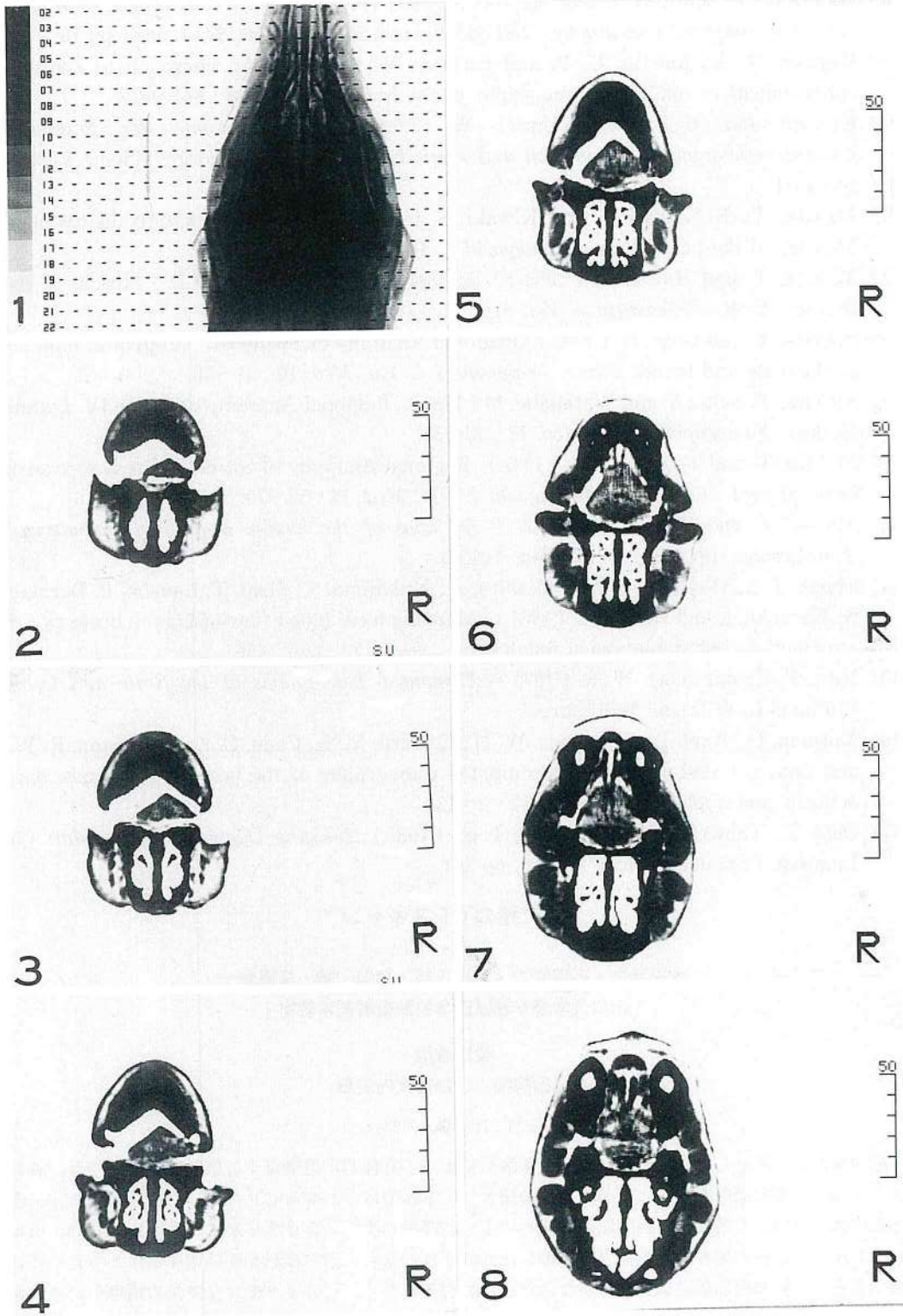
牧田登之・石田哲也・富永正哉・利部 聡・萬場光一
(山口大学農学部獣医学科家畜解剖学教室)

柴田眼治

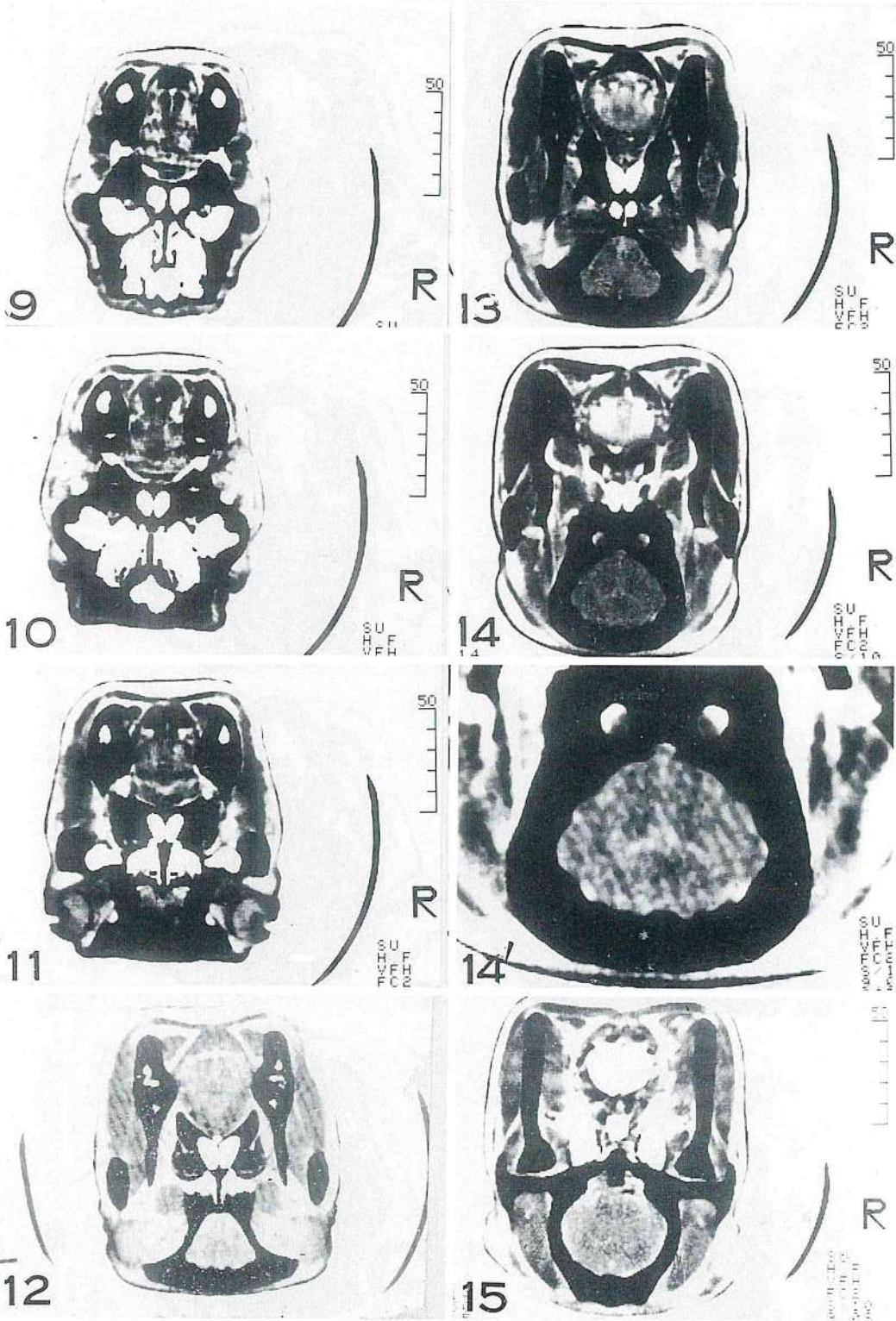
(柴田病院：山口市大内矢田)

[受付：1988年6月15日]

豚の解剖の一環として、脳の断面像を画像解析によって立体的に再構築する目的で、前報では、脳のスライスの肉眼解剖像を報告したが、その続報として本報ではいわゆるCTスキャン像をまとめた。生きた成豚を麻酔下で頭部を5mm間隔のレベルで1~22段階に横断および水平断にスキャンした他、ホルマリン固定した猪の頭も同一条件下で撮影した。いずれの像も、骨の概形を連続切片状にとらえることはできるが、脳の内部構造は解像力がないために鮮明ではなく、このままでは立体像の構築のための資料にはなり難い。やはり、造影剤の注入や、画像の処理などの工夫が必要である。

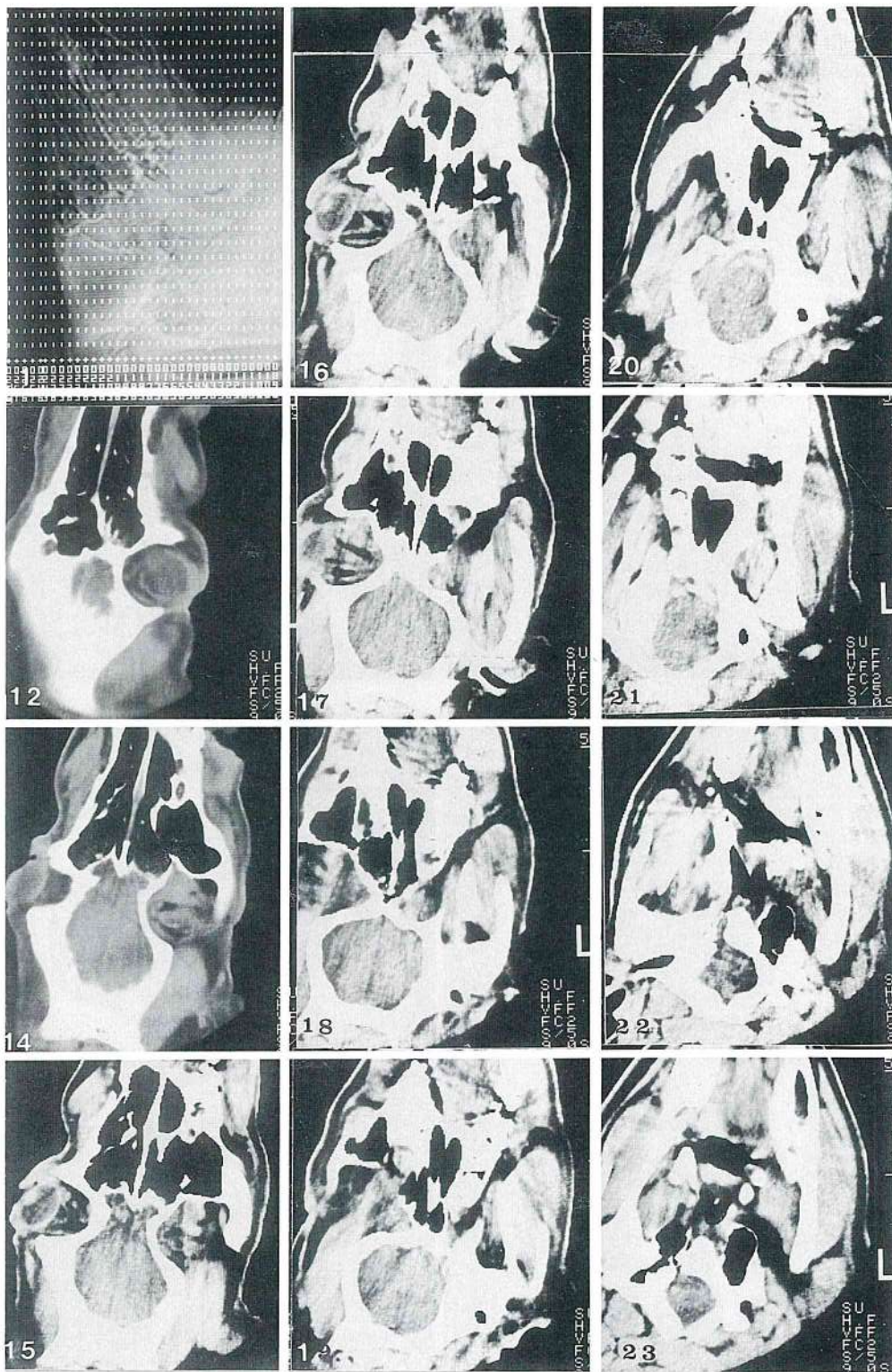


PL. 1

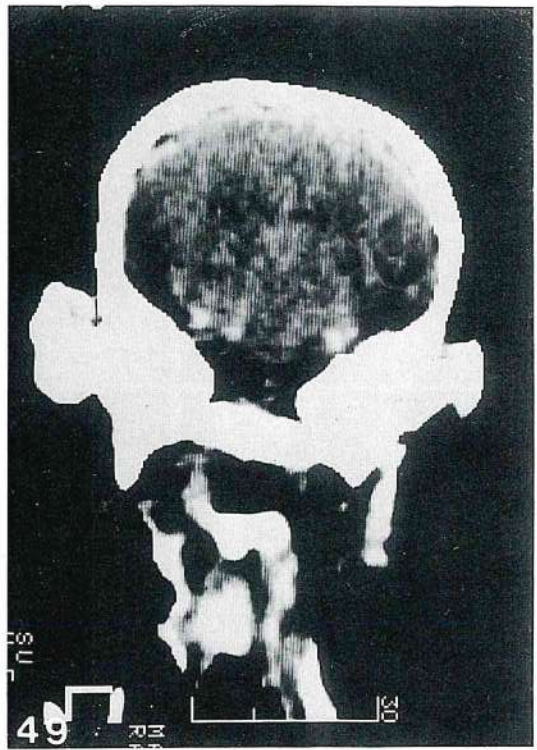
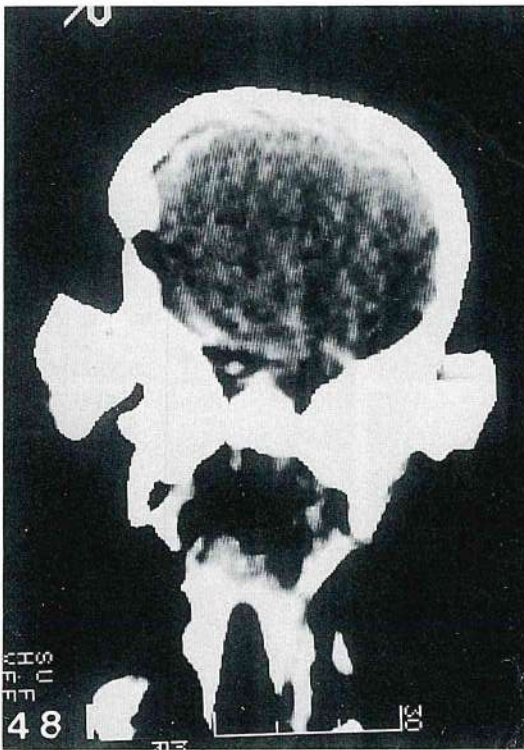
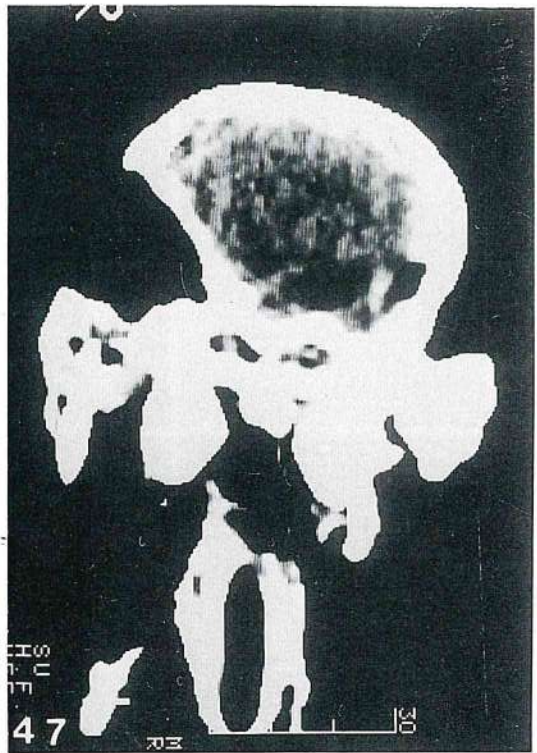
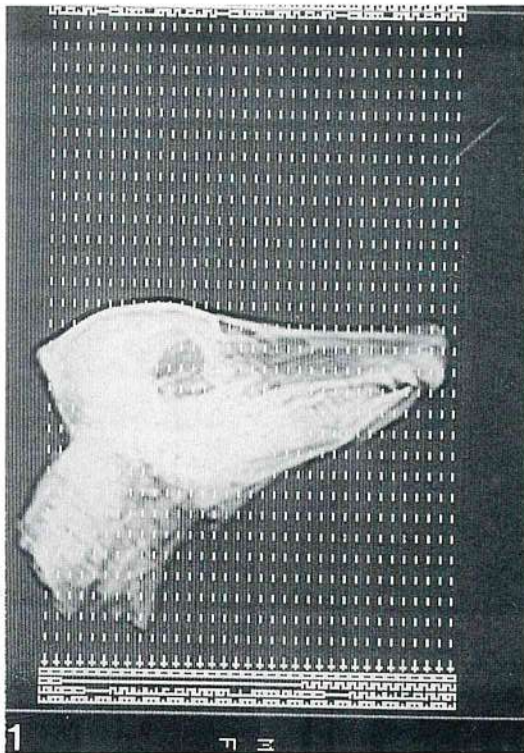


PL. 2

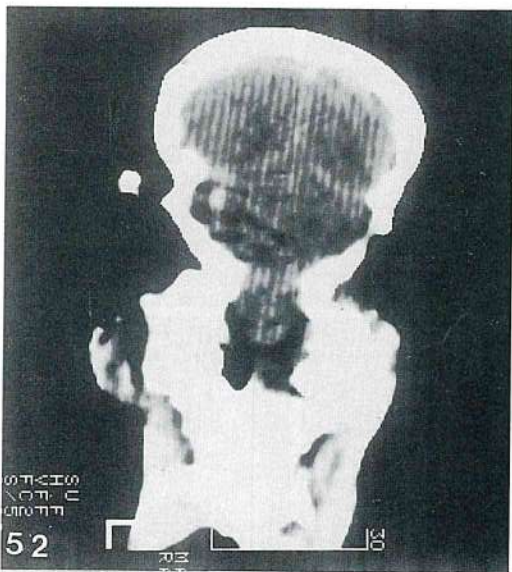
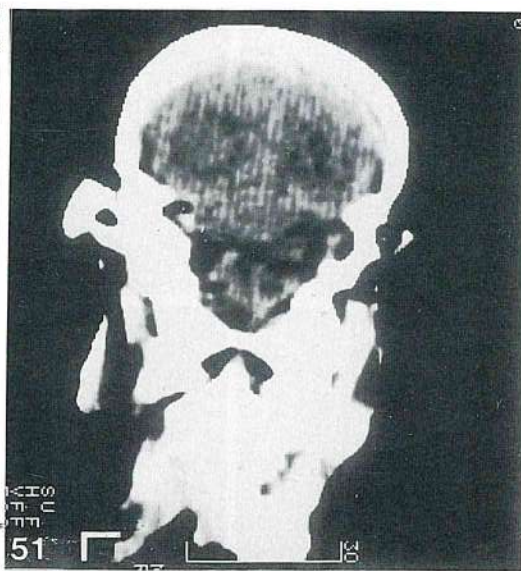
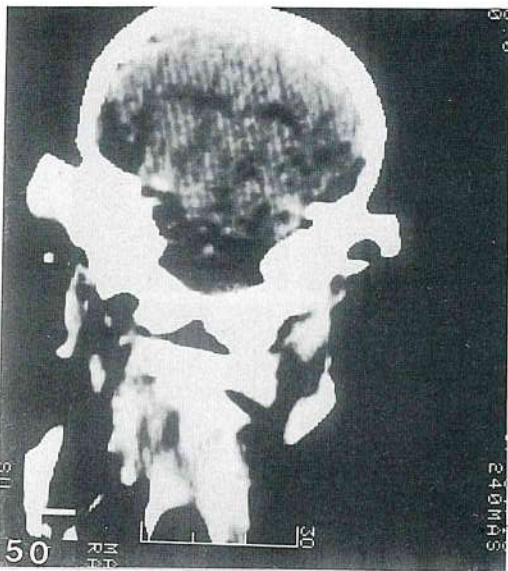




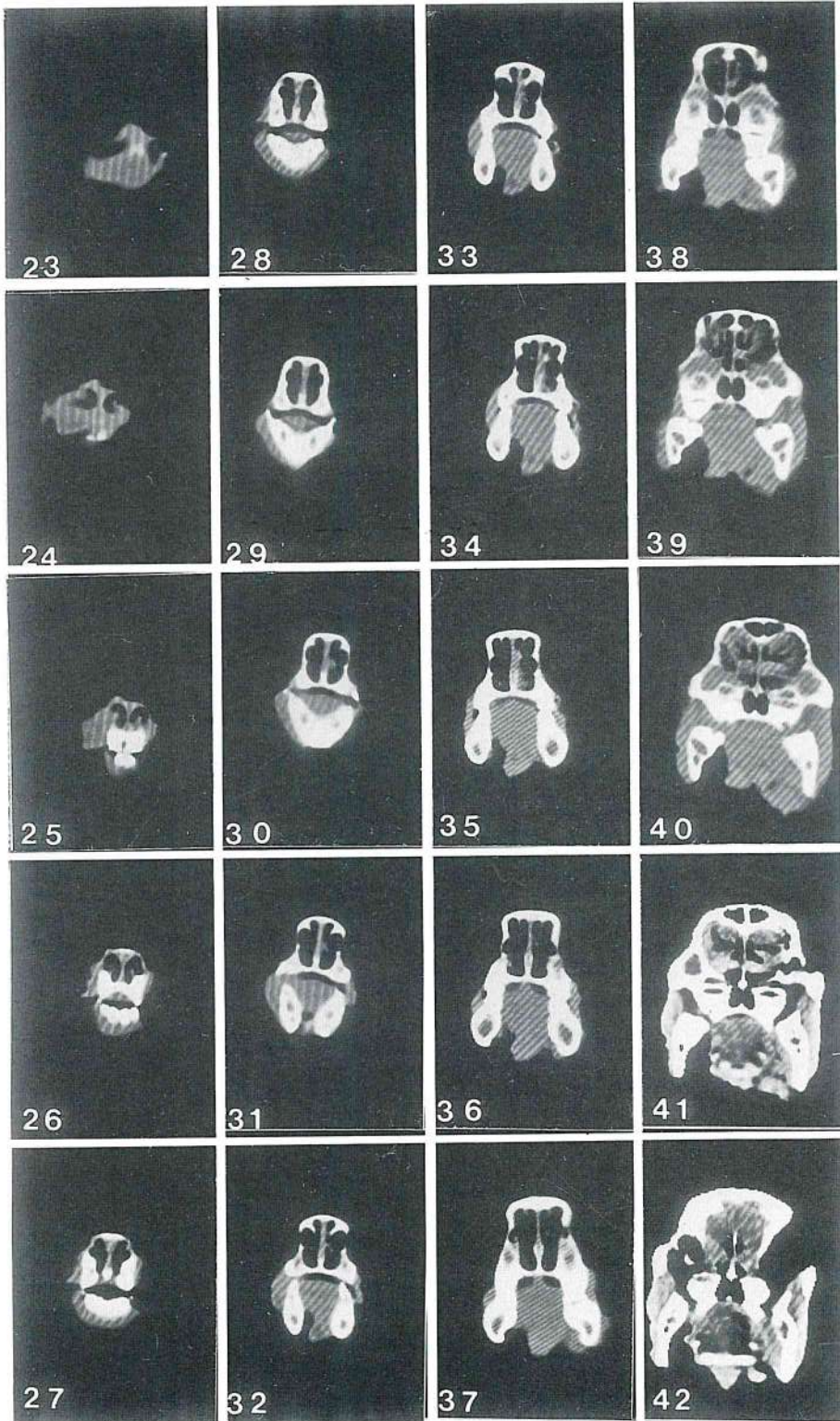
PL. 4



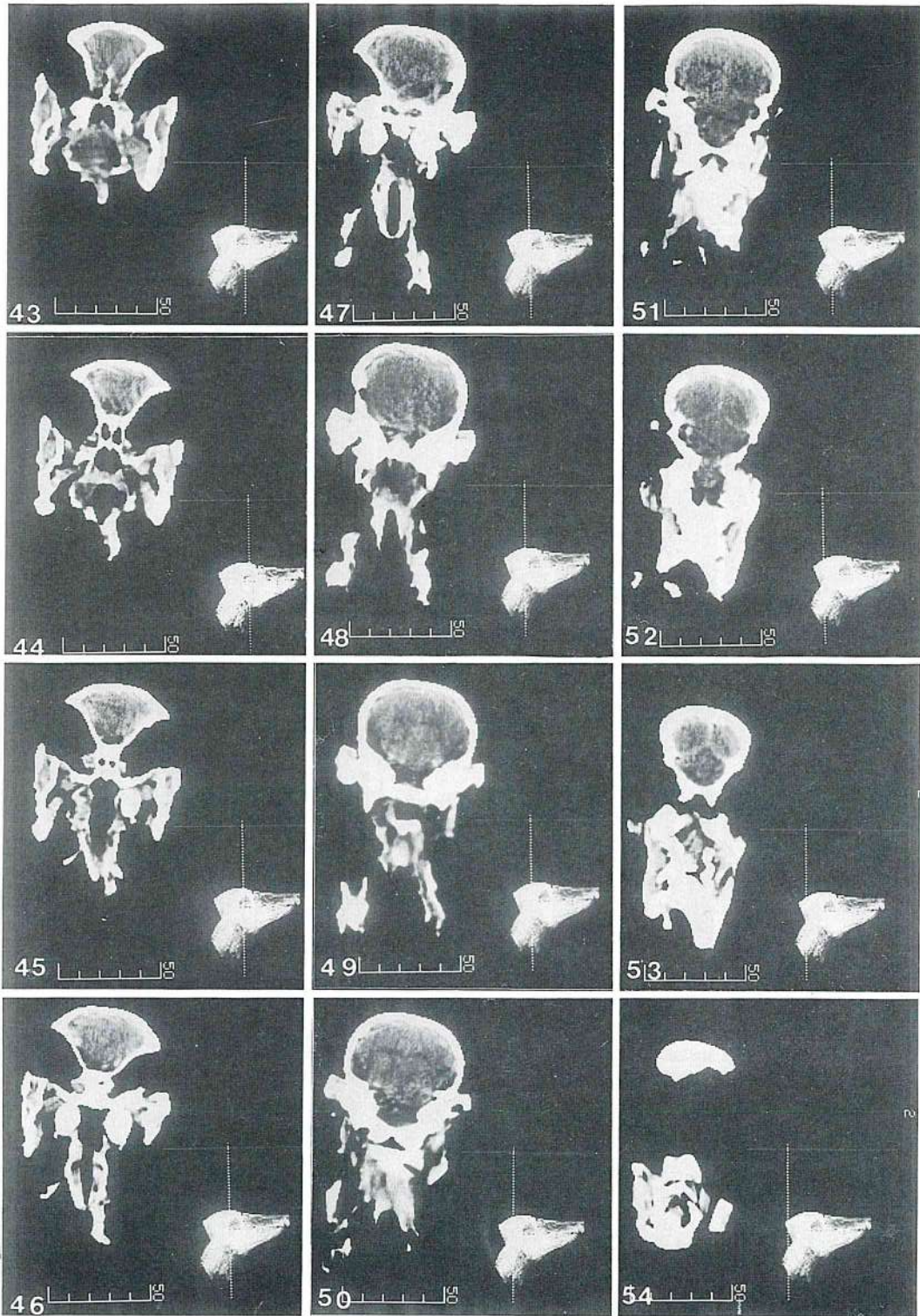
PL. 5



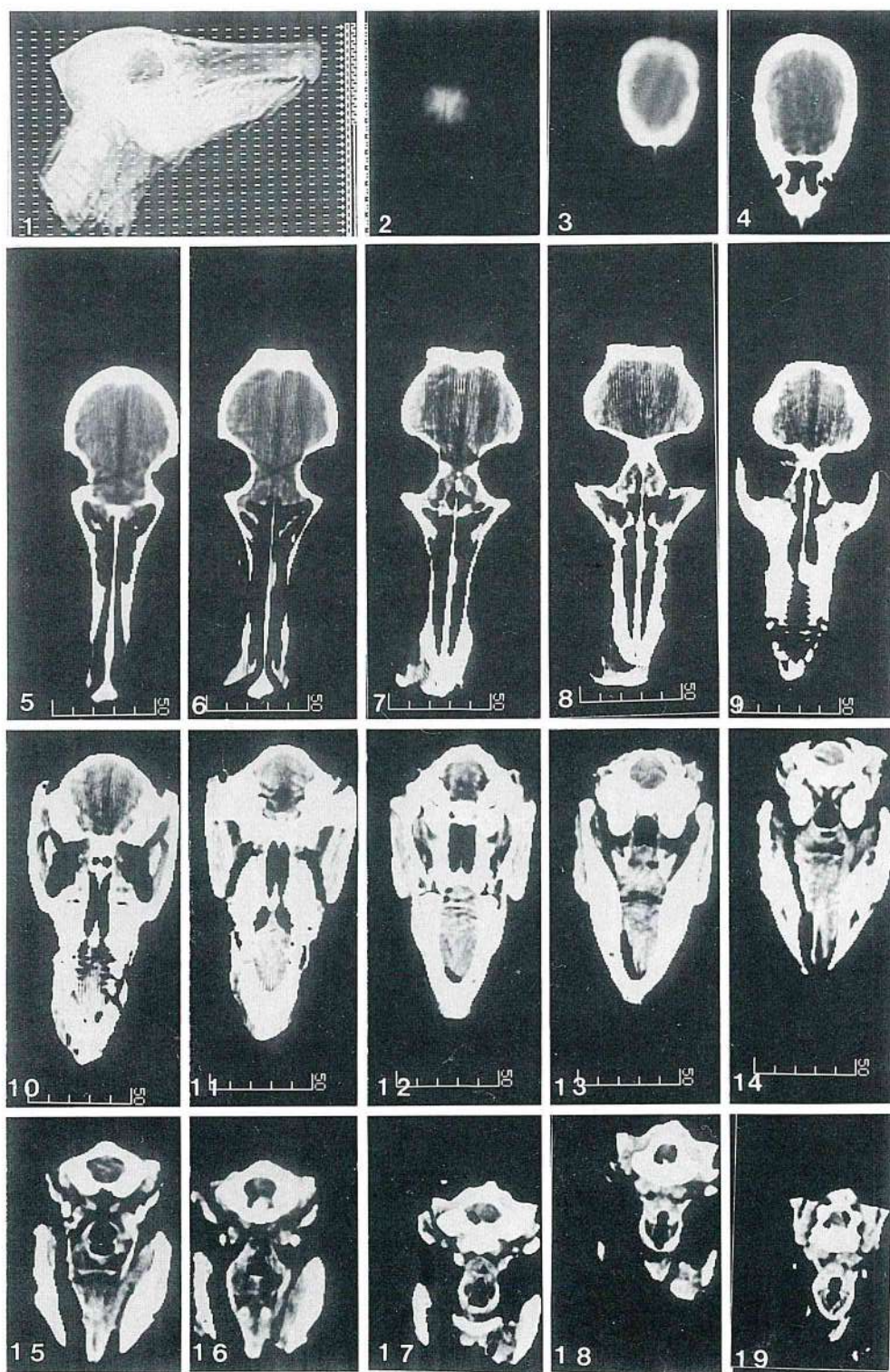
PL. 6



PL. 7



PL. 8



PL. 9

BODY AND ORGAN WEIGHTS AND THE LENGTH OF INTESTINE
OF AFRICAN (*SYNCERINA CAFFER*) AND ASIATIC
WATER BUFFALO (*BUBALUS BUFFELUS*)

Takashi MAKITA, Takashi ASAHINA, Hiroshi ICHIMARU, Tetsuya ISHIDA,
Satoshi KAGABU, Hiroshi KARIYAZONO, Mutsumi KAWATA, Reiko KODAKA
Koichi MAMBA, Takao OHOMOTO, Miho OHOUÉ, Koji SHIMOUCI
Katsuhito SONE, Tadatoshi TANIGUCHI, Masaya TOMINAGA
and Motomu WATBNABE

*Department of Veterinary Anatomy, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan*

[Received for publication : July 12, 1988]

INTRODUCTION

There are two types of water buffalo ; (1) Indian or Asiatic (*Bubalina*, *Bubalus buffelus*) and (2) African (*Syncerina*, *Syncerina caffer*). Asiatic water buffalo is largely domesticated and there are three subdivisions : Anri, Tamarao and Anoa. Anri buffalo is further divided into two categories, the River buffalo which has 50 ($2n$) chromosomes and the Swamp buffalo that has 48 ($2n$) chromosomes. River and Swamp buffaloes can mate and their F_1 has 49 chromosomes. The African water buffalo also has two types : red type (*Syncerina brachyceros*, Gray) and black type (*Syncerina caffer*, Spencer). Those water buffaloes have characteristic horns, the cross section of which is triangular in shape. In many aspects they resemble the domestic cow but they cannot mate. The type of tooth of the cow is ($\frac{0033}{4033}$) and that of the water buffalo is ($\frac{0033}{3133}$). Of those five types of water buffalo, we could obtain Swamp Asiatic water buffaloes and black African buffaloes. This is the anatomical record of their major organs.

MATERIALS AND METHODS

A total of five water buffaloes were used in this survey. One of each of Asiatic adult male, Asiatic adult female, African adult male, African adult female and African young female was sacrificed under anesthesia. Similar to our previous survey on Japanese monkeys (Makita *et al.* 1985), the weight of 23 major organs was measured and the length of intestine was also recorded. Due to the sampling for osteology, brains were not measured in this project. The weight of stomach was divided into the mass of rumen, reticulum, omasum, and abomasum. The weight of the stomach did not include its contents. The weight of the gall bladder was first included in that of the liver, and then the weight of liver was recorded separately.

Table. 1 Body and Organ Weights of 5 water buffaloes.

	AFRICAN			ASIATIC	
	Adult Male	Adult Female	Young Female	Adult Male	Adult Female
Body weight (kg) Approx.	1000	600	300	500	500
Heart (g) (g/kg)	5200(5.2)	3600(6.0)	1700(5.6)	2500(5.0)	2200(4.4)
Lung	10500(10.5)	10200(17.0)	4300(14.3)	3800(7.6)	2700(5.4)
Liver	9900(9.9)	7800(13.1)	2400(8.0)	5800(11.6)	3600(7.2)
Gall bladder	210(0.21)	300(0.5)	200(0.67)	41.3(0.08)	65(0.13)
Spleen	1600(1.6)	880(1.5)	840(2.8)	2700(5.4)	1200(2.4)
Thymus	*	*	335(1.1)	*	*
Kidney Right	1100(1.1)	540(0.9)	270(0.9)	400(0.8)	265(0.5)
Left	1020(1.0)	520(0.9)	245(0.8)	460(0.9)	293(0.6)
Urinary bladder	385(0.4)	300(0.5)	124(0.4)	353(0.7)	372(0.7)
Adrenal gland Right	21(0.02)	20(0.03)	6(0.02)	22.9(0.05)	17.3(0.04)
Left	21(0.02)	20(0.03)	4.7(0.02)	23.8(0.05)	20.9(0.04)
Thyroid gland Right	18(0.02)	12(0.02)	3.3(0.01)	25.9(0.05)	8.3(0.02)
Left	17(0.02)	13(0.02)	7.9(0.03)	25.9(0.05)	10.4(0.02)
Eye ball Right	30.4(0.03)	25.0(0.04)	22.5(0.08)	34.7(0.07)	32.5(0.07)
Left	30.0(0.03)	24.6(0.04)	22.7(0.08)	34.7(0.07)	32.9(0.07)
Parotid gland Right	330(0.33)	200(0.33)	73.5(0.25)	131(0.26)	59.5(0.12)
Left	290(0.29)	180(0.30)	55.4(0.18)	148(0.30)	40.8(0.08)
Submand gland Right	125(0.13)	55(0.09)	42(0.14)	91(0.18)	73(0.15)
Left	125(0.13)	60(0.10)	36(0.12)	88(0.18)	77(0.15)
Pancreas	500(0.50)	370(0.62)	160(0.53)	440(0.88)	365(0.73)
Stomach (I + II + III)	19000(19.0)	17000(28.3)	4000(13.3)	14700(29.4)	14500(29.0)
(IV)	1200(1.20)	1400(2.3)	600(2.0)	1600(3.2)	1200(2.4)
Testis Right	440(0.44)	*	*	168(0.34)	*
Left	450(0.45)	*	*	159(0.32)	*
Epididymis Right	60(0.06)	*	*	15.7(0.03)	*
Left	60(0.06)	*	*	14.6(0.03)	*
Seminal vesicle	60(0.06)	*	*	38.6(0.08)	*
Prostate gland	153(0.15)	*	*	113.7(0.23)	*
Ovary Right	*	7.7(0.01)	2.1(0.07)	*	1.15(0.002)
Left	*	3.7(0.006)	-	*	1.78(0.004)
Oviduct Right	*	3.6(0.006)	-	*	0.92(0.002)
Left	*	2.7(0.005)	-	*	0.97(0.002)
Uterus	*	700(1.2)	70(0.23)	*	146(0.29)
Vagina	*	720(1.2)	200(0.67)	*	253(0.51)

(-) =not measured, (*) =not available, (g/kg) =relative organ weight per body weight.

Table 2 Length of Intestine

	AFRICAN			ASIAN	
	Adult Male	Adult Female	Young Female	Adult Male	Adult Female
Small Intesine	16.16m	17.86m	21.46m	24.50m	21.20m
Cecum	0.55m	0.83m	0.36m	0.50m	0.56m
Colon & Rectum	10.30m	8.93m	1.67m	6.05m	10.57m
Total	27.01m	27.62m	23.49m	30.60m	32.33m

RESULTS

The body weight and the weight of the major organs of the five water buffaloes are listed in Table 1. The length of the intestine with its subdivision, small intestine, cecum and the rest of the large intestine, is recorded in Table 2. The body weights of the male swamp buffalo and that of the female have been described as 670 kg and 450 kg respectively, while those of the male river buffalo and of the female have been reported as 600 kg and 550 kg. The body weight of an African water buffalo so far reported ranged from 800 to 1200 kg. The Carabao buffalo, one of the swamp buffalo living in the Philippines, is reported to be smaller than the others. Its male weights 520 kg and the female weights 450 kg (Naito 1978). The body weight in Table 1 shows that both the African black type and the Asiatic swamp type in this survey were in the normal range. The body color of the African was dark black and their horns were typically triangular in shape. Fig. 1 (adult male), Fig. 2 (adult female) and Fig. 3 (young female) show the lateral side of their faces. The body color of Asiatic water buffaloes was brownish grey and they were smaller than the African type in size. Figs. 4 and 5 show the general view of the heart of African and Asiatic water buffaloes. Apart from their size, both of them resemble each other in shape. The inner view of the left (Fig. 6) and the right (Fig. 7) ventricles of the Asiatic adult male was quite similar to those of other animals. The surface view of respiratory organs (Fig. 8 and 9) and spleen (Figs. 10, 11 and 12) was similar to that of cattle. The thymus was available only in the young female of the African type. Of salivary glands only submandibular glands (Fig. 13, 14) and the parotid gland (Fig. 15) were measured. The diaphragmatic surface of the liver (Fig. 16) was divided into two lobes by falciform ligament and notch for round ligament. The left lobe of the water buffalo was more square-shaped than that of the domestic cattle. Fig. 17 and 18 illustrate the visceral surface of the liver and the gall bladder. The general view of the intestine of African water buffaloes (Fig. 19) was quite similar to that of Asiatic water buffaloes. Fig. 20 and Fig. 21 show isolated pancreas. Figs. 22 is the right side of the stomach of Asiatic water buffaloes. Esophagus, rumen, reticulum, omasum abomasum, dorsal coronary groove, ventral coronary groove, right longitudinal groove, and caudodorsal blind sac of rumen can be identified. The inner view of the rumen in Fig. 22 is demonstrated in Fig. 23.

Papillae of the rumen (Fig. 24 and 25) and honeycomb-like cell of the reticulum (Fig. 26) resemble those of domestic cows. The surface of longitudinal folds of omasum (Fig. 27 and 28) and the mucosal surface of the abomasum (Fig. 29) of both African and Asiatic water buffaloes were identical. Of endocrine glands of water buffaloes, only thyroid glands (Fig. 30, 31) and adrenal glands (Fig. 32, 33) were recorded. Testis and ovary will be described in male and female genital organs. The isthmus of the thyroid gland of the water buffalo was much thinner than that of the domestic cow. The general shape of the right and left adrenal gland of the water buffalo was also somewhat different from that of the domestic cow. The adrenal gland of the Asiatic water buffaloes (Fig. 33) rather resembled that of the domestic cow, though right adrenal was not so V-shaped as that of the domestic cow. The shape of the adrenal glands of African water buffaloes was more round and thicker than that of their Asiatic counterparts. The most interesting difference between African water buffaloes was found in the surface view of kidneys. As in domestic cows,

both types of water buffaloes had lobular-like kidneys. However, those in the Asiatic water buffaloes were much less lobulated (Fig. 34) than those in the African water buffaloes (Fig. 35) in surface view. The lobular shape of the kidney of the African type (Fig. 35) was much more prominent than that of domestic cows. The urinary bladders of Asiatic (Fig. 36) and African water buffaloes (Fig. 37) were quite similar to each other. Fig. 38 shows the general abdominal view of the ovary, oviduct, uterus and vagina of an Asiatic water buffalo. Her ovaries were isolated and measured (Fig. 39). The inner view of the uterus, cervix and vagina is revealed in Fig. 40. Except for the proportion of each section of the uterus, cervix and vagina, the inner view of the mucous membrane (Fig. 41) was similar to that of the domestic cow. The general view of male genital organs is included in Fig. 42. The ampulla of vas defferens, seminal vesicles, prostate gland, bulbourethral gland and penis could be identified. The location (Fig. 43) and the isolated shape of right and left seminal vesicles (Fig. 45) of the Asiatic water buffaloes were quite similar to those of the African ones. The shape of the seminal vesicles of a domestic cow is more round and fat in general. The glands of the penis of water buffaloes (Fig. 44) did not have prominent urethral process which is conspicuous in the ram and other types of ruminant. The testis and epididymis of an African water buffalo are recorded in Fig. 46, 47 and 48. The testis and epididymis of Asiatic water buffaloes were quite similar to those of African buffaloes, although they were not included in Figures.

DISCUSSION

The lobular kidney (*Ren lobatus*) is an embryonic feature of the kidney of domestic animals. However, the bovine kidney has a lobular appearance in the adult, though it is not a lobular kidney in its inner structure. The kidneys of the African water buffalo and the Asiatic water buffalo differed in their appearance. The surface of the kidney of the African water buffalo was less lobulated than that of the Asiatic water buffalo (Fig. 34 and 35). The ordinary bovine kidney is intermediate of these two types of water buffalo. It is interesting to note that mammals living on the waterfront such as polar bears and others have a lobular kidney.

Sex dimorphism has been noticed in salivary glands of water buffaloes. Although the difference of body weight should be taken into consideration, the parotid and submandibular glands of the male were larger than those of the female.

The whole skeletal system was preserved in this laboratory.

Textbooks of bovine anatomy (Nickel, Schummer and Seiferle 1973, Getty 1975, Barone 1976, Ellenberger / Baum 1977, Pesquini 1982, Ashdown and Done 1984, Pavaux 1982), an atlas of cows (Naito 1978), and a veterinary textbook (Kato 1979) were consulted for comparative anatomy (splanchnology) of the water buffalo. Since the number of samples was limited, our observation was accordingly limited as a brief note. But we appreciate the opportunity to dissect those samples for an anatomical record.

REFERENCES

1. Ashdown, R. R. and Done, S. (1984) : *The Ruminants*. University Park Press.

- Baltimore. pp. 226.
2. Barone, R. (1976) *Anatomie comparee des mammifères domestiques*. III. *Splanchnologie*. Lab. d'anatomie, école nationale vétérinaire, Lyon, pp879.
 3. Getty, R. (1975) : *The Anatomy of the Domestic Animals*. vol. 1. Chapter 29~32. 5th ed. W. B. Saunders Co. Philadelphia, London, Toronto. pp. 1211.
 4. Kato, Y. (1979) : *Atlas of comparative anatomy of domestic animals*. Yokendo, Tokyo. 2nd revised ed. vol. II. (in Japanese) pp. 661.
 5. Makita, T., Anjiki, T., Goto, H., Hakoi, K., Hirabara, K., Ishida, T., Kakazu, H., Mochizuki, S., Ozaki, K., Sagara, E., Saito, Y., Shimouchi, K., Sone, K., Tominaga, M., Tsuzuki, Y., and Watanabe, M. (1985) : Body and organ weights and the length of intestine of Japanese monkey (*Macaca Fuscata*) II, *Yamaguchi J. Vet. Med.* 12 : 97 ~100.
 6. Naito, M. (1978) : *A color atlas of cattle of world*. Yokendo, Tokyo. (in Japanese) pp207.
 7. Nickel, R., Schummer, A. and Seiferle, E. (1973) : *The Viscera of the Domestic Mammals*. Verlag Paul Parey. Berlin, Hamburg. pp401. (Translated by Sack, W. O)
 8. Pasquini, C (1982) : *Atlas of bovine anatomy*. Sudz Publishing. California. pp335.
 9. Pavaux, C. (1982) : *Atlas en couleurs d'anatomie des bovine*. *Splanchnologie*. Maloine s. a. editeur. Paris.

LEGEND OF FIGURES

- Table 1 Body and organ weights of 5 water buffaloes. Relative organ weights per body weight (g/Kg) are also included.
- Table 2 Length of intestine of 5 water buffaloes.
- PL. 1 Lateral view of face of African water buffaloes. Body color was black. The interval between two horns was narrower than that of Asiatic water buffaloes.
- Fig. 1 Adult male African water buffalo.
 - Fig. 2 Adult female African water buffalo.
 - Fig. 3 Young female African water buffalo.
- PL. 2 Circulatory system.
- Fig. 4 Heart of an African water buffalo. Adult female.
 - Fig. 5 Heart of an Asiatic water buffalo. Adult male.
 - Fig. 6 Inner view of left ventricle of the heart in Fig. 5.
 - Fig. 7 Inner view of right ventricle of the heart in Fig. 5.
- PL.3 Respiratory system.
- Fig. 8 Lung and bronchi of an Asiatic water buffalo. Left apical lobe is more irregular in shape than a domestic cow. Adult male.
 - Fig. 9 Lung and bronchi of an African water buffalo. Right apical lobe is larger than that of Asiatic water buffaloes. The diaphragmatic lobes of both sides are thinner than those of Asiatic water buffaloes. The accessory lobe is not shown in this picture. Adult female.
- PL. 4 Spleen.
- Fig. 10 Parietal surface of spleen of an Asiatic water buffalo. Adult male.
 - Fig. 11 Visceral surface of the spleen in Fig. 10.
 - Fig. 12 Parietal surface of spleen of an African water buffalo. Adult male.
- PL 5 Salivary glands.
- Fig. 13 Submandibular glands of an African water buffalo. Young female.
 - Fig. 14 Submandibular glands of an African water buffalo.
 - Fig. 15 Parotid glands of an Asiatic water buffalo. Adult male.

PL. 6 Liver and gall bladder.

Fig. 16 Diaphragmatic surface of the liver of an Asiatic water buffalo. Adult male.

F : falciform ligament, N : notch for round ligament,
L : left lobe. Large and square in shape. R : right lobe.

Fig. 17 Visceral surface of the liver in Fig. 16.

G : gall bladder, C : cystic duct, P : portal vein,

Fig. 18 Visceral surface of the liver of an African water buffalo. Adult male.

PL. 7 Intestine and Pancreas.

Fig. 19 Intestines of an African water buffalo. Adult female.

Asiatic water buffaloes have similar intestines.

Fig. 20 Pancreas of an Asiatic water buffalo. Adult male.

Fig. 21 Pancreas of an African water buffalo. Adult male.

PL. 8 Stomach.

Fig. 22 Right lateral aspect of stomach of an Asiatic water buffalo.

Adult male. E : esophagus, R : rumen, Re : reticulum, O : omasum, A : abomasum, D : duodenum,
B : caudal blind sac of rumen, L : right longitudinal groove, V : ventral coronary groove,

Fig. 23 Inner view of the rumen in Fig. 22. P : papillae, Pi : pillar, Re : reticulum.

PL. 9

Fig. 24 Papillae of rumen in Fig. 22 and 23.

Fig. 25 Papillae of rumen of an African water buffalo. Adult female.

Fig. 26 Honeycomb-like cells of reticulum. A part of Fig. 22.

PL. 10 Stomach.

Fig. 27 Omasum of an African water buffalo. Adult female.

Fig. 28 Surface of laminae of omasum of an Asiatic water buffalo. Adult male.

Fig. 29 Mucosae of abomasum of an Asiatic water buffalo. Adult male.

PL. 11 Endocrine glands.

Fig. 30 Thyroid gland of an African water buffalo. Adult male. Upper one is left (L) lobe and left side of the picture is cranial. Isthmus of the thyroid gland is much thinner than that of ordinary cattle. The isthmus of this picture includes connective tissues to maintain the connection.

Fig. 31 Thyroid gland of an Asiatic water buffalo. Adult male. Upper one is left lobe. The weight and volume of the thyroid gland were larger than those of African water buffaloes.

Fig. 32 Adrenal glands of an African water buffalo. The general view of left (upper) and right lobes are round and thick. Right lobe is not V-shaped as that of a cow. Adult male.

Fig. 33 Adrenal glands of an Asiatic water buffalo. Adult male. Left lobe (upper) is roughly C-shaped as that of a domestic cow but right lobe is not V-shaped. The length of the gland is roughly the same as that of an ox, but its weight (20-23g) is heavier than that of adult cattle (12-15g).

PL. 12 Urinary system.

Fig. 34 Right (upper) and left (bottom) kidneys of an Asiatic water buffalo. Adult male. Lobulated structure of the surface is not so prominent as that of a domestic cow.

Fig. 35 Kidneys of an African water buffalo. Adult male. Lobules are apart and lobules are more than twenty in number.

Fig. 36 Urinary bladder of an Asiatic water buffalo. Adult male. A part of Fig. 42 and Fig. 43. Asiatic.

Fig. 37 Urinary bladder of an African water buffalo. Adult male. African.

PL. 13 Female genital organs.

Fig. 38 The general view of female genital organs of an Asiatic water buffalo. O : ovary, U : uterus, V : vagina, H : uterine horn.

Fig. 39 Isolated ovaries of an Asiatic water buffalo.

Fig. 40 The inner view of the uterus, cervix and vagina in Fig. 38.

Fig. 41 A high power of a part of Fig. 40. Cervical canal and external uterine orifice are exposed.

PL. 14 Male genital organs.

Fig. 42 A general view of urogenital system of an Asiatic water buffalo. Testis and epididymis are not included. G : glands of penis, S : seminal vesicles, B : bulbourethral gland, P : body of prostate gland, D : ductus deferens.

Fig. 43 A part of Fig. 42. U : urinary bladder, D : ductus deferens, S : seminal vesicle, P : prostate gland.

Fig. 44 Cranial extremity of penis. A part of Fig. 42. G : glands, Notice that urethral process is invisible.

Fig. 45 Seminal vesicle or vesicular gland of water buffalo. Asiatic. Its general shape is not so round as that of domestic cattle.

PL.15 Testis (T) and epididymis (E) of African water buffalo. (An Asiatic water buffalo has similar testis and epididymis)

Fig. 46 Left and right epididymis and testis resemble each other.

Fig. 47 Left testis in Fig. 47.

Fig. 48 Left epididymis in Fig. 47. H : head, B : body, T : tail, V : vas deferens.

アフリカ水牛とアジア（インド）水牛の体重，臓器重量および腸管の長さ

牧田登之・朝日奈暁・一丸 仁・石田哲也・利部 聡・苅屋園弘志・川田 睦・小高礼子
 萬場光一・大元隆夫・大上美穂・下内孝司・曾根勝仁・谷口只敏・富永正哉・渡辺 求
 (山口大学農学部獣医学科家畜解剖学教室)

[受付：1988年7月12日]

水牛には赤毛と黒毛のアフリカ水牛と，Anri, Tamarao, Anoa の3亜種からなるアジア（インド）水牛がいる。Anri アジア種は河川（River）にいるものと，泥沼（Swamp）にいるものがある。このうち黒毛のアフリカ水牛の成体雄雌各一頭と若い雌一頭およびアジア種の成体雌雄各一頭の合計五体を解剖する機会に恵まれた。そこでこれまで日本猿，マントヒヒなどの解剖記録を行って来た方式に沿って，主要臓器の重量・腸管の長さを計測した。また重要臓器は写真によって，Fig. 1～48に示す。例数が少ないので一般的な比較は出来ないが，家畜の牛との比較，アジア種とアフリカ種の比較，雄と雌との差，に重点をおいて観察した。

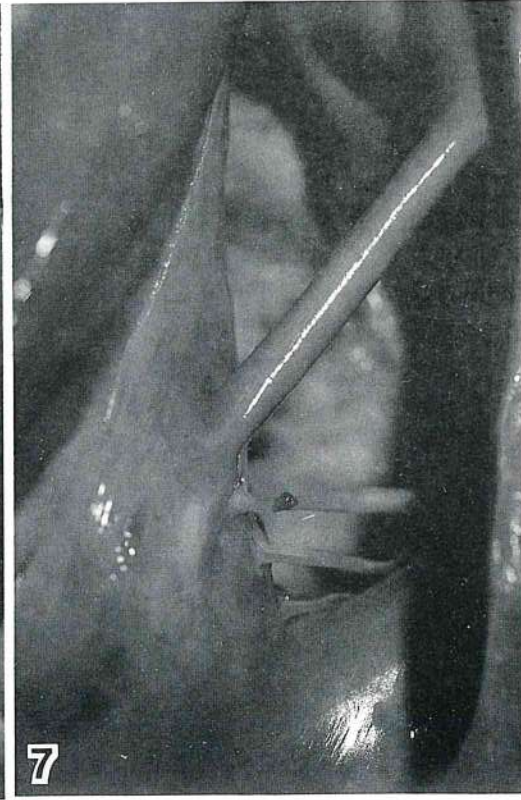
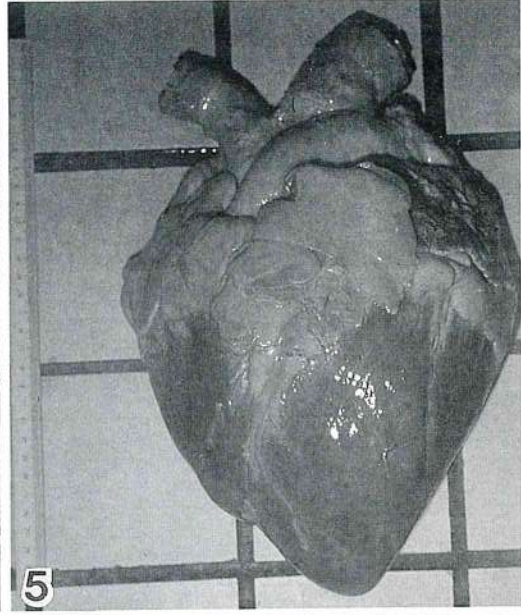
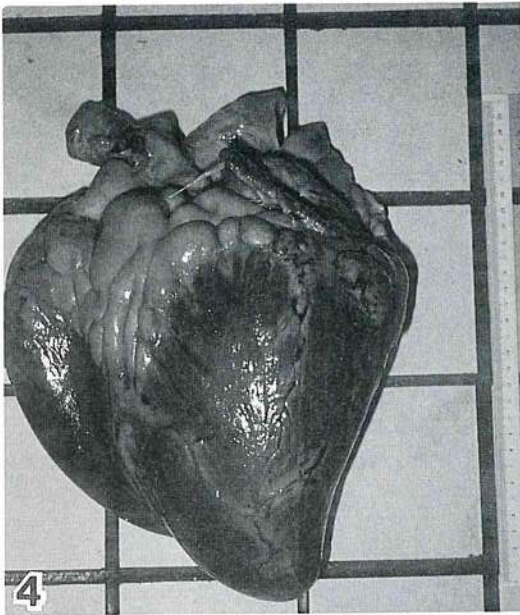
牛に較べて，肝の左葉が大きく四角形であること，胆のうが比較的小さいこと，甲状腺の峡部が非常に細いこと，副腎の右葉のV字形，左葉のC字形が牛のように明瞭でないこと，陰茎亀頭の尿道突起が殆どみられないこと，などに注目した。

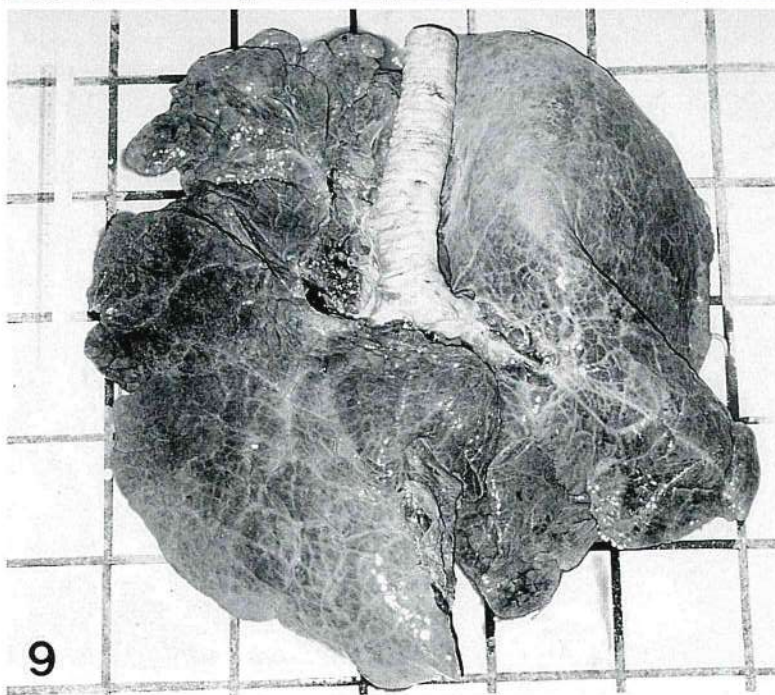
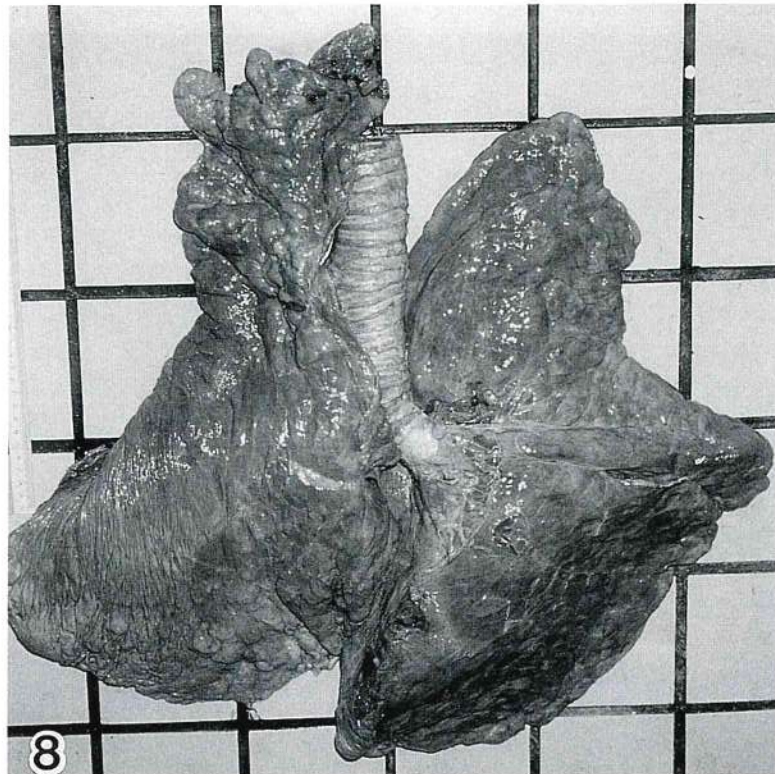
アジア種とアフリカ種は，体色，角の断面が3角形である度合い，角と角の間隙がアフリカ種ではきわめて接近しているなど，外形による違いが明瞭であるが，内臓も副腎の外形，肝臓の外形，肺の各葉の形状などに差異がみられる。とくに，腎臓の表面は，牛も分葉状に区分されているが，更にアフリカ種は3頭とも脂肪をよく除けば各分葉が離れる位になっているのに対し，アジア種では分葉の程度が通常の牛以下になっている（Fig. 34）のが特筆すべき点であった。

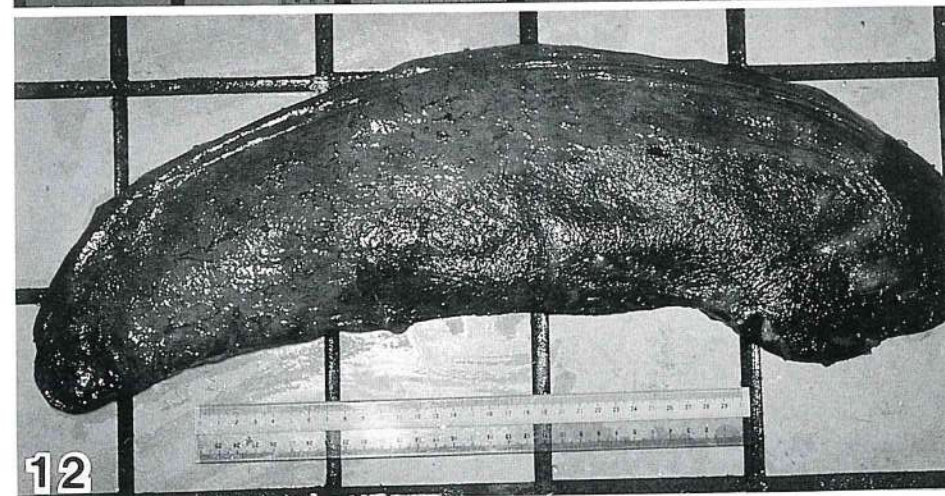
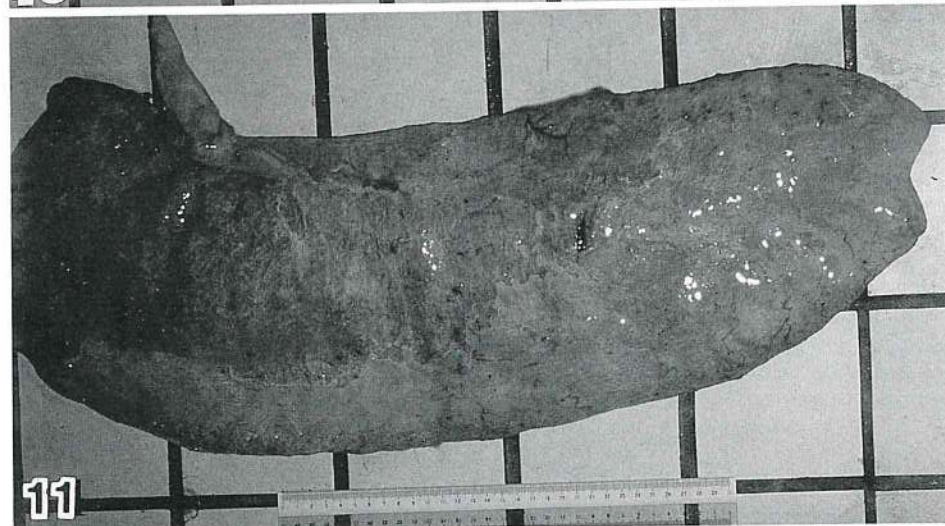
性差は，下顎腺，耳下腺で体重比からみても雄の方が雌よりも発達が良好であった。

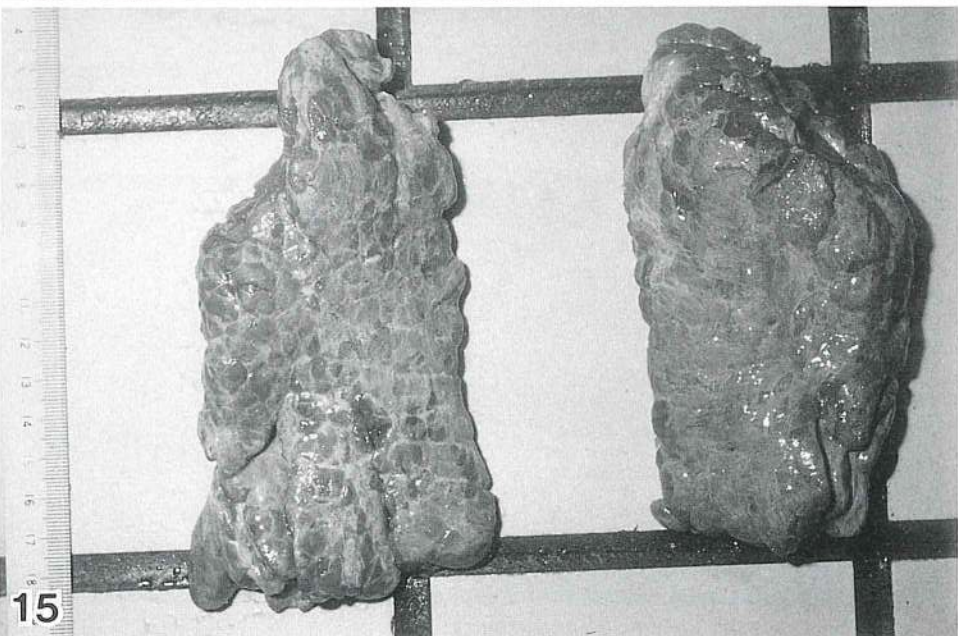
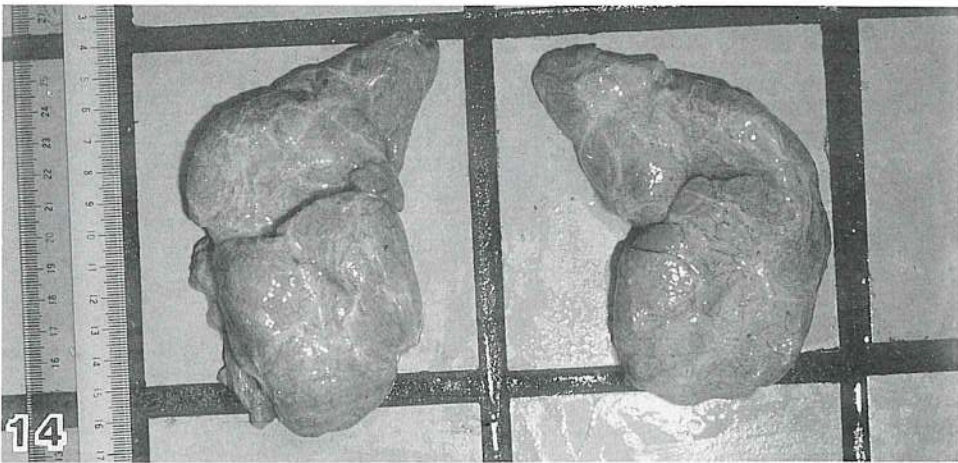
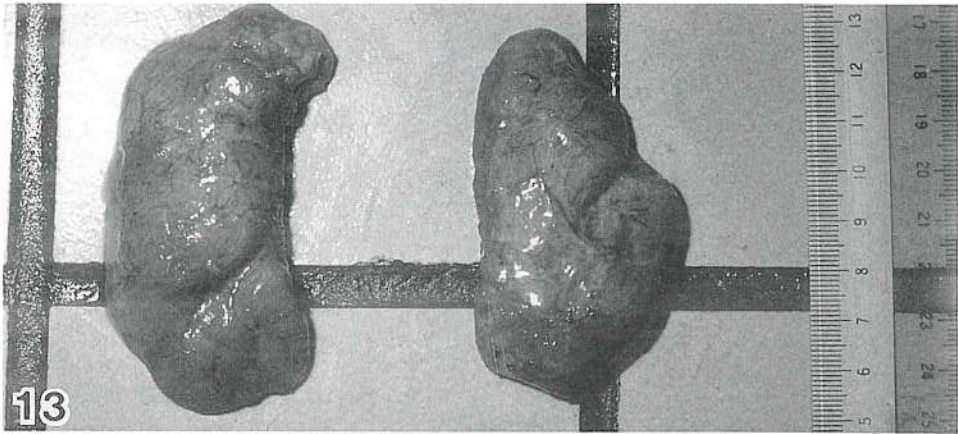


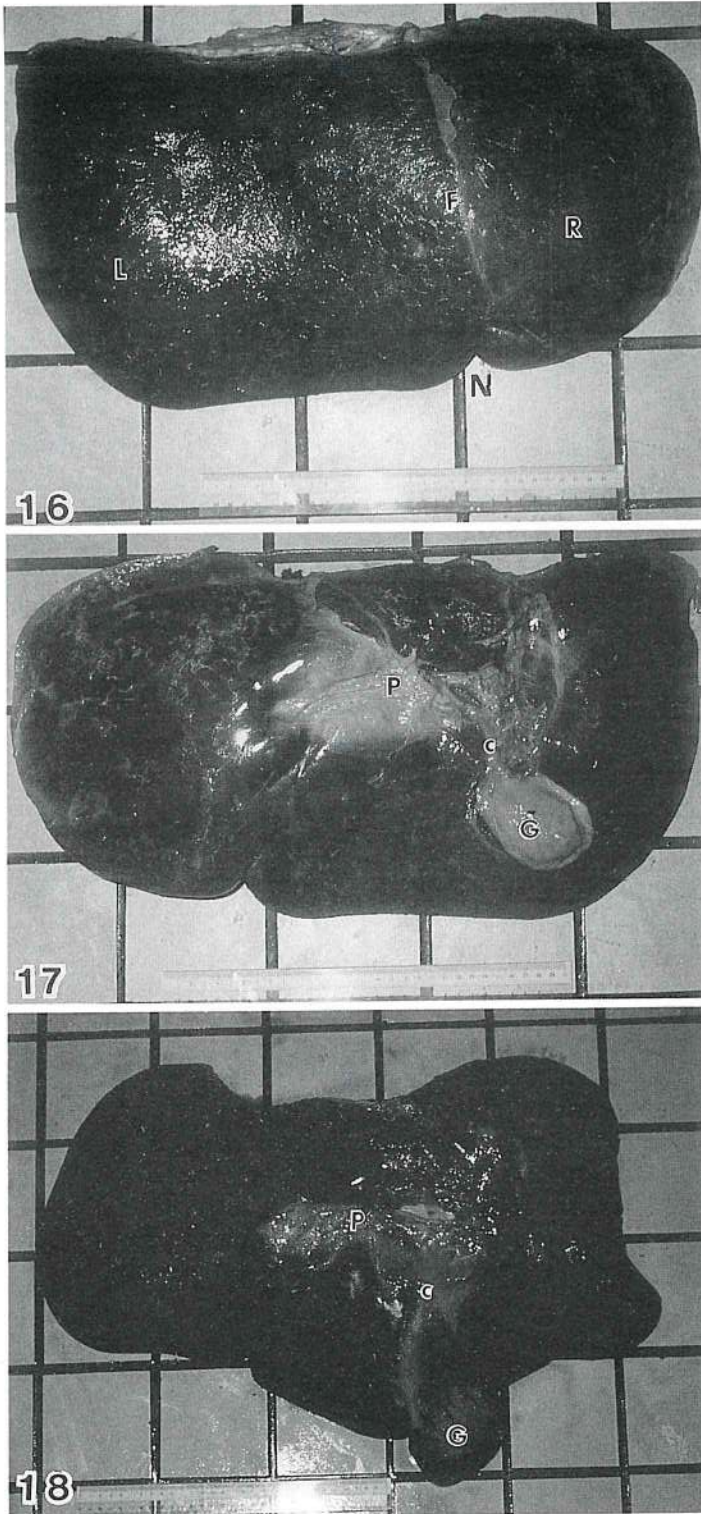
PL. 1



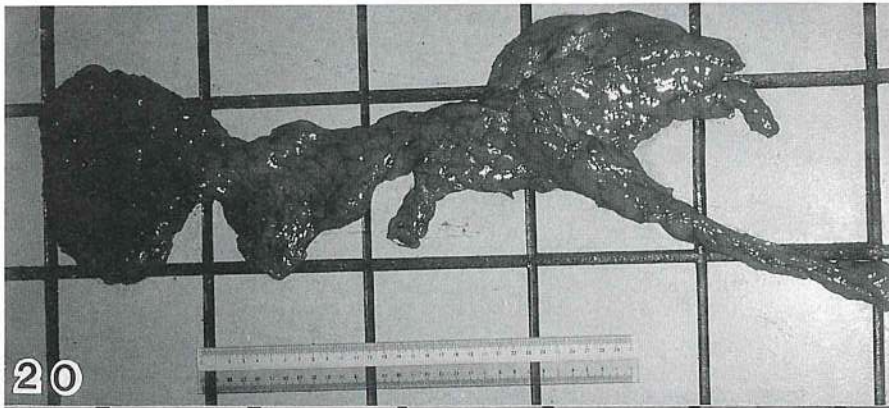


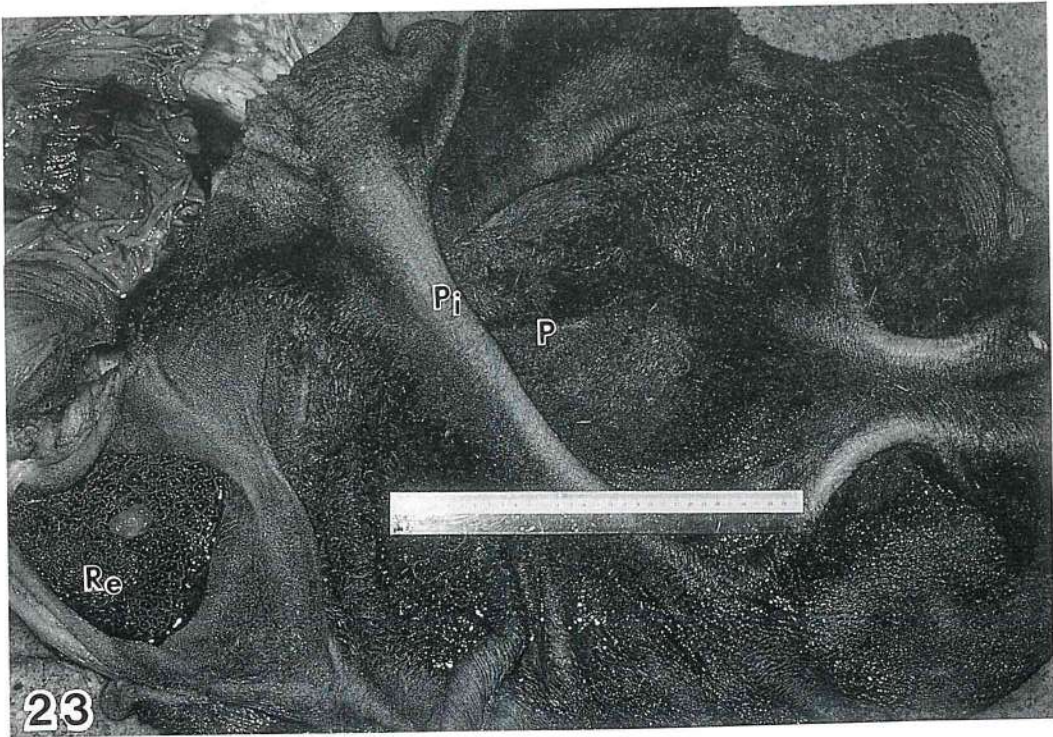
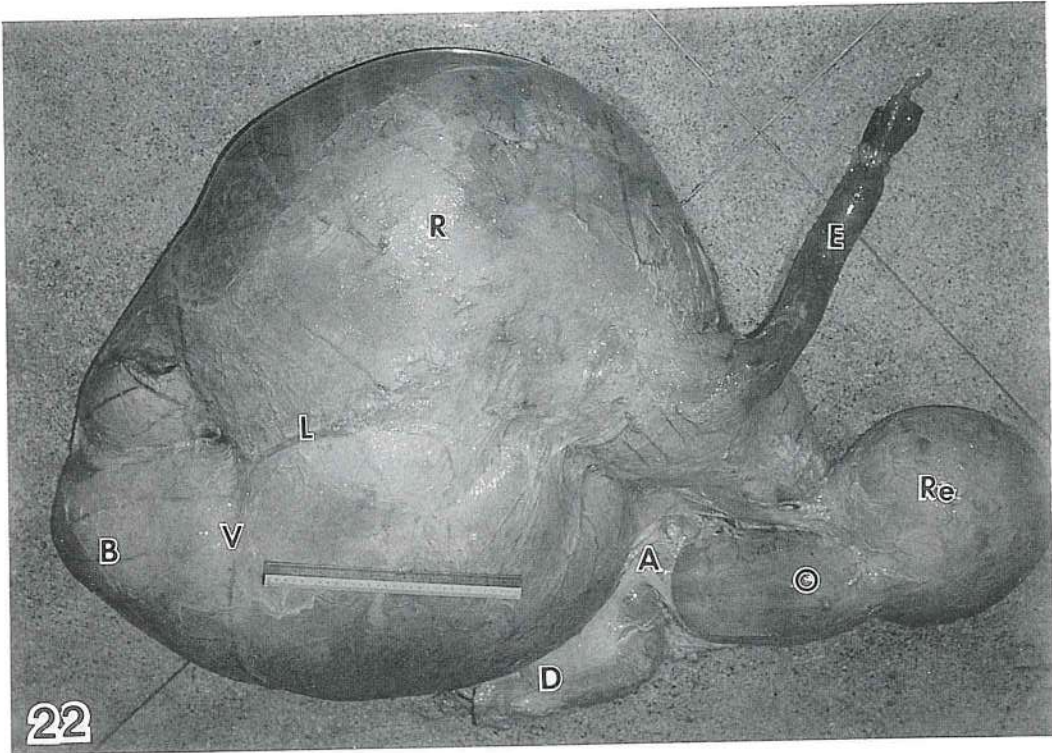


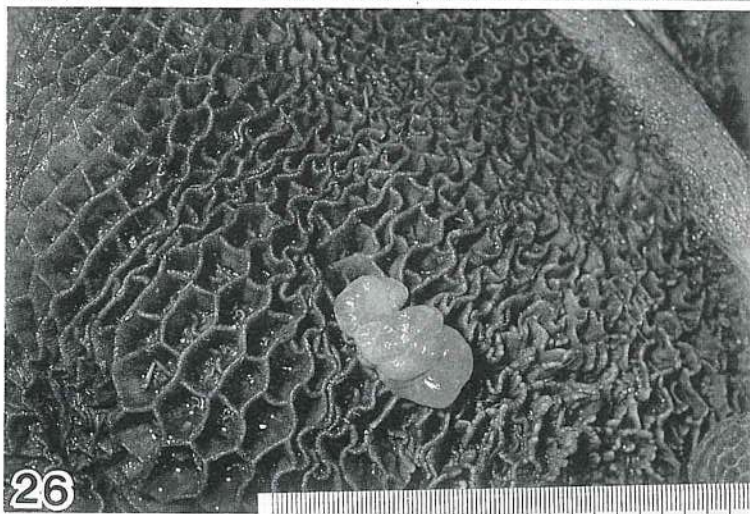
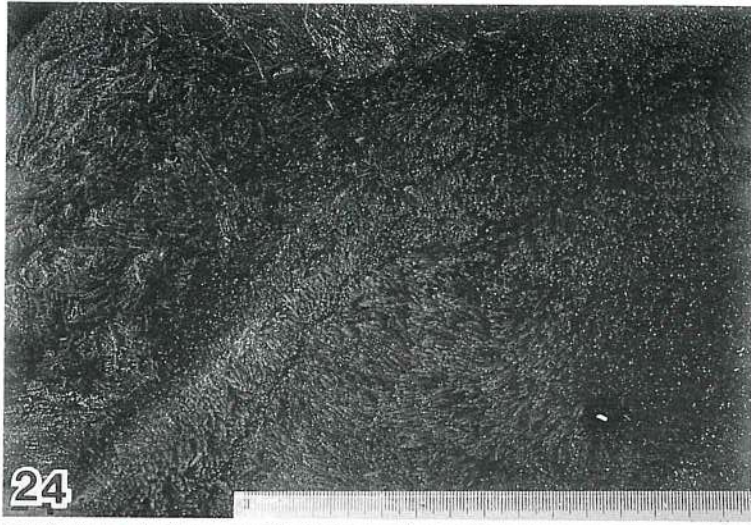




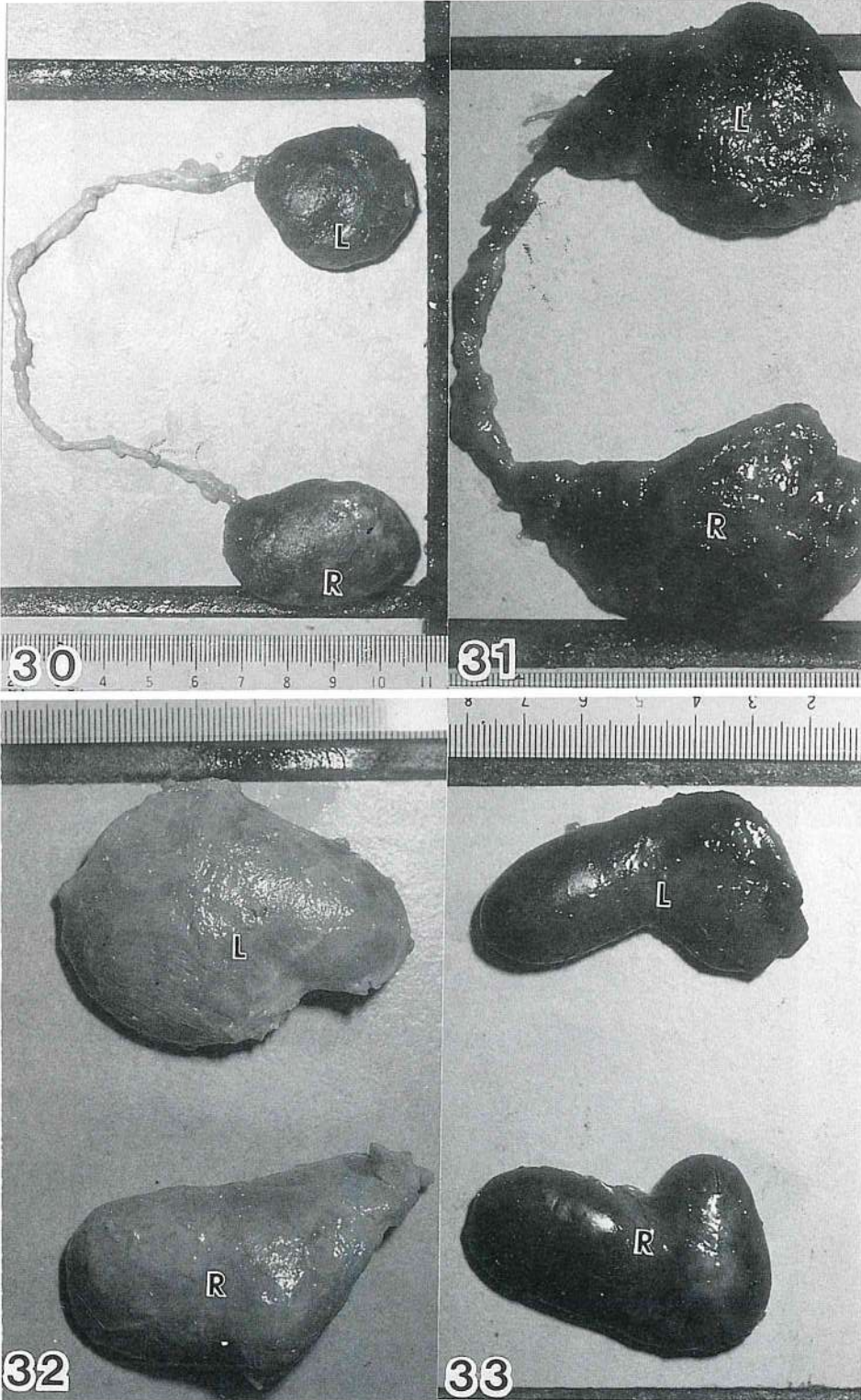
PL. 6

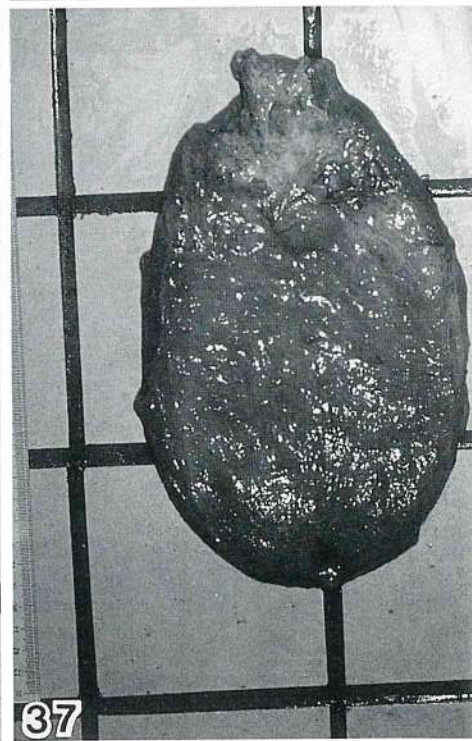
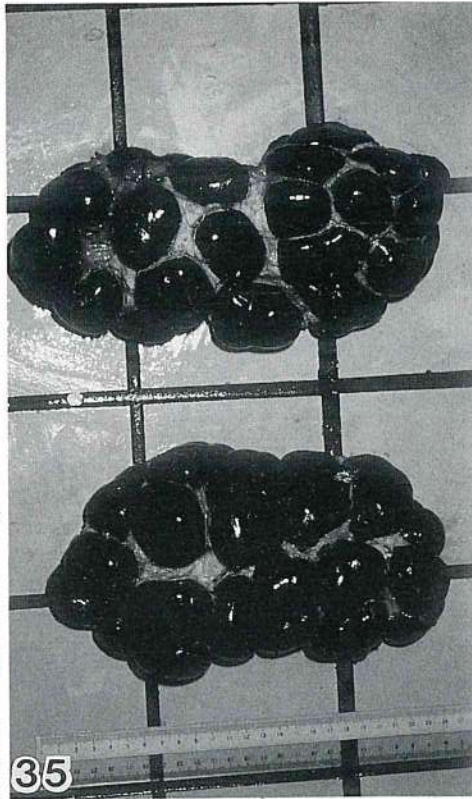
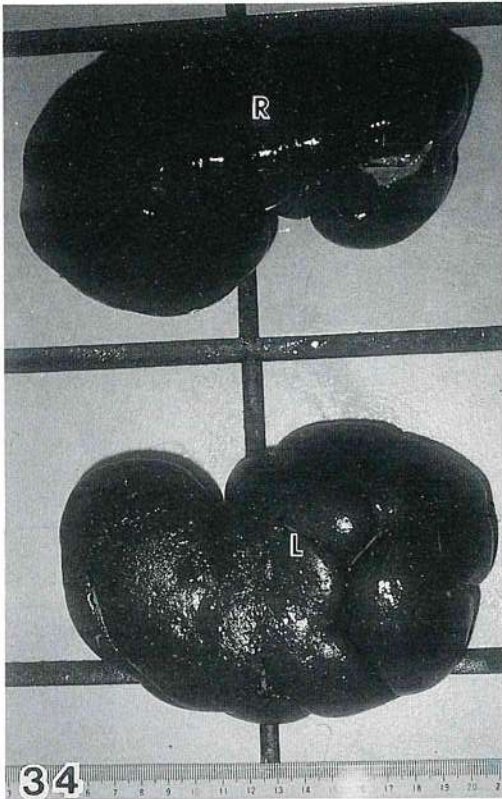


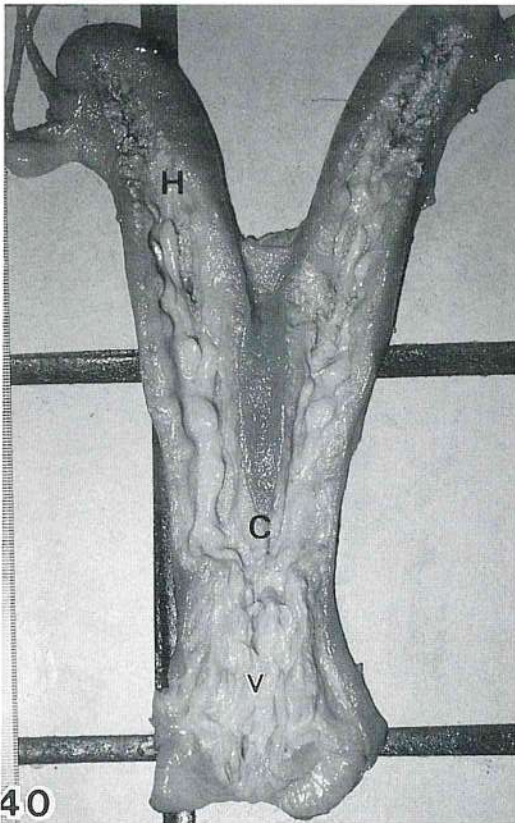
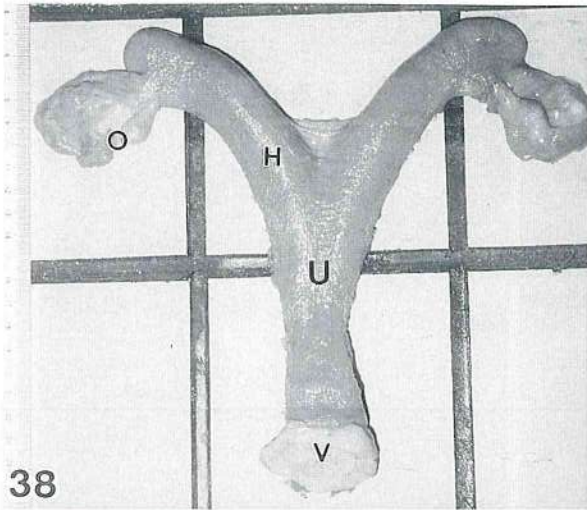


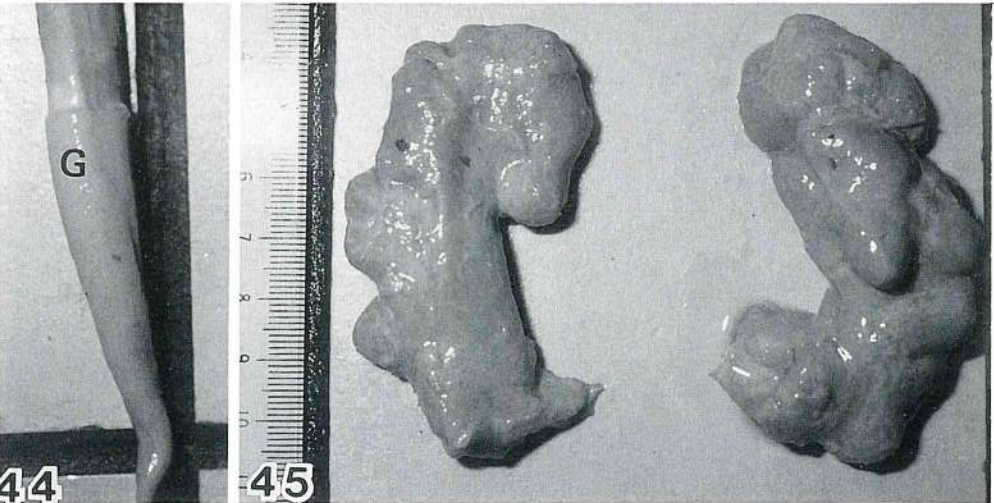
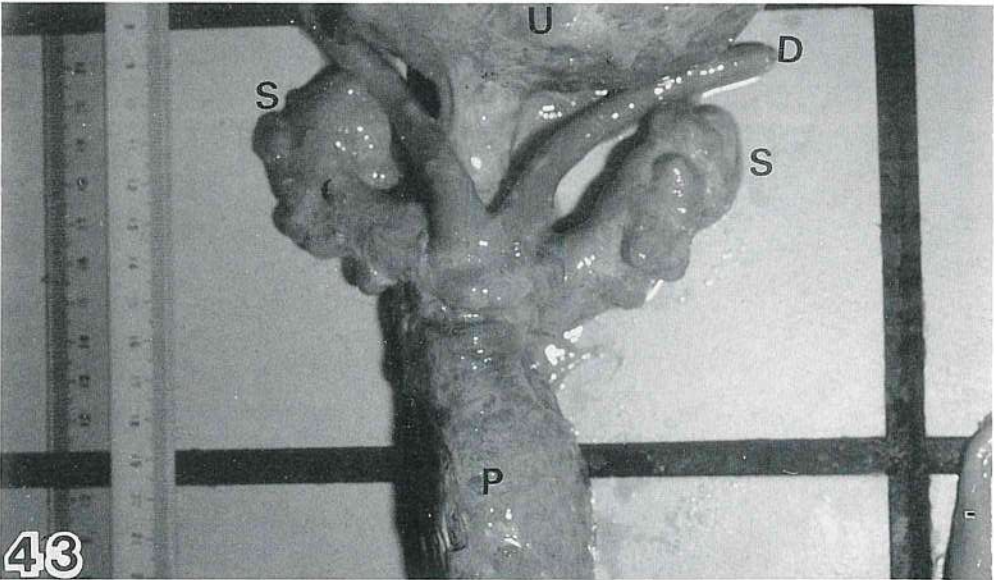
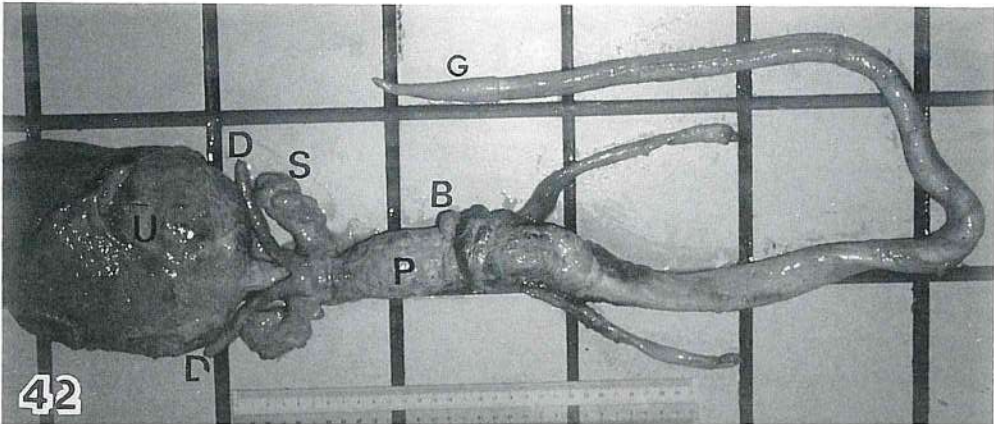


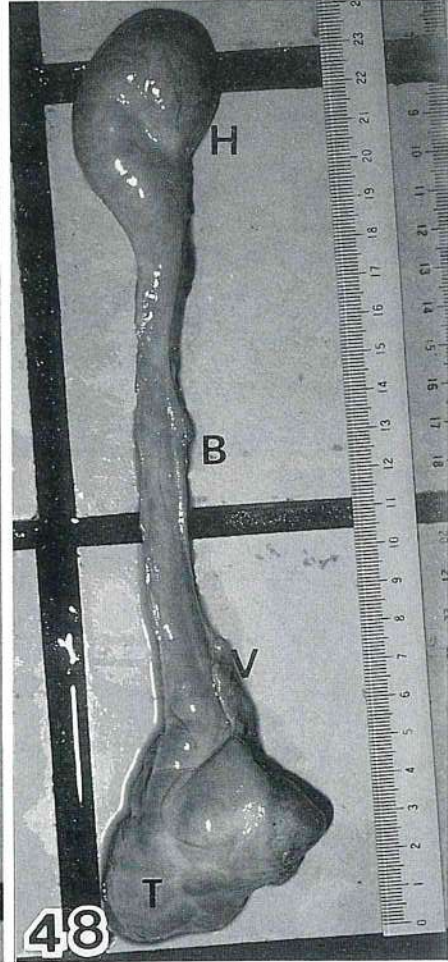
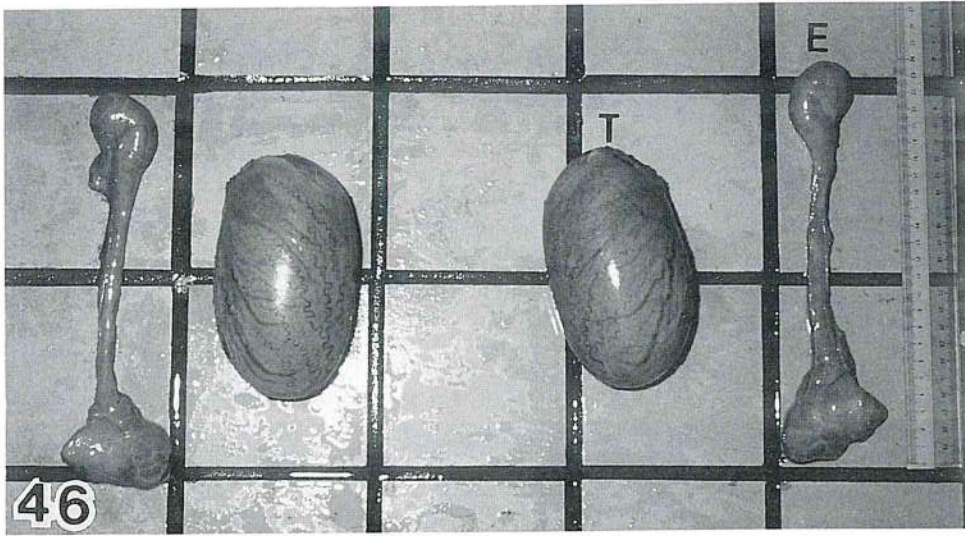












黒毛和種の分娩後乳汁中黄体ホルモン測定による 卵巣機能回復の検討

白水完治*・阿武雅夫*

〔受付：1988年9月20日〕

ESTIMATION OF OVARIAN FUNCTION OF JAPANESE BLACK CATTLE BY PROGESTERON MEASUREMENT IN MILK AFTER DELIVERY

Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU

*The Veterinary Hospital, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan*

〔Received for publication : September 20, 1988〕

Progesteron in skim milk of a total of 28 Japanese black cattle was measured after their delivery to estimate the recovery of their ovarian function. Of 28 cattle, 8 were normal, 19 were cycle delayed type with low progesteron, and one was cycle ceased type with high progesteron. Out of 8 normal types, 2 became cycle ceased type 55 days after delivery.

牛肉の輸入自由化が進行する状況にあつて、繁殖黒毛和種を飼育する農家の対応策としては、繁殖率の向上、経費の低減及び肉質の高品質保持などがあげられている。

このうち繁殖率については、その管理技術が十分に確立されているとはいえず、繁殖性能は低い状態で停滞している¹⁰⁾。とくに舎飼いの畜舎環境や運動、日光浴不足などの飼育管理上の問題もあつて、分娩後の発情回帰が遅延し経済効率を低下させている。

今回、山口県山間地の農家で飼育されている黒毛和種繁殖雌牛について、乳汁中の黄体ホルモン（P）濃度を継続的に測定し、分娩後の卵巣機能回復の経過を検討した。

材料および方法

1. 供試牛

山間畜産地帯の農家14戸で飼育されている黒毛和種で、1987年1月～9月に分娩した28頭を供試

した。すべて単房飼育で、ときに係留して日光浴をするが、運動はほとんどしていない。

2. 乳汁採取およびP測定

測定用の乳汁採取は分娩後6日～18日より開始し、1週間間隔で初回授精の次週まで実施した。乳汁は遠心分離し、脱脂乳をP測定用EIAキット（帝国臓器）によってP濃度の測定をした。

3. 直腸検査

乳汁採取時に直腸検査を実施して、卵巣の所見を記録した。

4. 乳汁中のP値を折れ線グラフで表し、その変動のパターンを、守野ら⁵⁾の基本4型に準じて分類した。

成 績

I型（正常型）に類似したパターンがみられた8例を、(Fig. 1)および(Fig. 2)に示した。1週間間隔の乳汁採取のため、経日的な変動は不明であるが、分娩後20日前後にP値が1ng/ml以上

* 山口大学農学部附属家畜病院

となり、以後発情が発現した。しかし、(Fig. 2)の牛No12, 13は55~75日の間1ng/ml以下で経過して、卵巢静止に移行した。

II型(遅延型)に類似し、分娩後20日までにP値の上昇が認められなかった例について、分娩後25~27日にP値上昇の3例を(Fig. 3)に、また分娩後30日~38日にP値上昇の4例を(Fig. 4)に示した。いずれもその後発情が発現した。

またII型(遅延型)に類似して分娩後32日以後にP値上昇し、その後発情徴候の不明な2例No2, 26および分娩後P値が上昇しないまま発情して授精妊娠した1例No7を(Fig. 5)に示した。

III型(低値周期停止型)に類似しているが、分娩後60日以上P値が上昇しない5例を(Fig. 6)に示した。これらの例では卵巢静止が認められ、発情発現に分娩後55~90日以上を要した。

またIII型(低値周期停止型)に分類される1例No19と、型は類似しているがP値が1ng/ml以下の低値で推移して、分娩後40~50日に発情、授精によって妊娠した2例No22, 25、分娩後30日より卵巢囊腫に移行した1例No18およびIV型(高値周期停止型)に類似したパターンを認めた1例No5を(Fig. 7)に示した。

考 察

牛における血中および乳汁中のP濃度は、近年のホルモン微量測定法の進歩によって、比較的簡便に測定が可能となった。とくに脱脂乳による測定法は、検体の採取が容易で、また乳汁採取時刻の制約がなく、その有効性が確認されている。⁸⁾

牛の分娩後における血中または乳汁中のP値の推移については、種々のパターンがあり^{1,4,10)}、卵巢機能の回復の指標とされている。また繁殖障害の診断にも有効と認められている¹⁴⁾。これらは主として乳牛における成績であって、黒毛和種の測定結果は少なく^{7,9,11,12,13)}、とくに黒毛和種の乳汁中P値の推移については、ほとんど報告されていない。

黒毛和種では、分娩間隔が13.3ヵ月⁹⁾とされ、栄養的に過不足なく飼料給与された舎飼いでも、分娩後初発情が72日⁷⁾を要している。また単飼舎飼いでは、発情徴候が看過され易いことは経験的に知られていて、繁殖管理は困難な状態にある。

今回、黒毛和種の分娩後の卵巢機能回復状況をj知るため、発情が発現して授精した次週まで、乳

汁中のP値を1週間隔で測定した。

その変動パターンを、守野ら⁹⁾の乳牛におけるI型~IV型のパターン分類に準じて検討した。

正常型とされているI型に類似したパターン(Fig. 1, 2)は、8/28例28.6%にみられ、守野ら⁹⁾の18.4%より多く認められた。しかしそのうち2頭は明瞭な発情徴候が確認されず、分娩後50日以後低P値で推移したが、70日前後に発情し授精した。

分娩後20日までに血中または乳汁中のP値の上昇する例について、乳牛において守野ら⁹⁾がI型, II型, III型を含めて44.7%に認め、また62%²⁾, 51.5%¹⁴⁾とされている報告にくらべて、本実験の28.6%の成績は著しく低率であった。このことは乳牛との飼養環境の差異によるものであるか明かではないが、黒毛和種においては卵巢機能回復の遅延例が多いことを示している。

しかし、遅延型とされるII型に類似し、分娩後25~38日にP値上昇のパターン(Fig. 3, 4)がみられた7/28例25%は、いずれもその後発情し妊娠している。分娩後の初回排卵が14~40日⁹⁾の成績もあり、黒毛和種における遅延型の分類については今後検討が必要と思われる。

同じくII型の類似と分類した2例(Fig. 5)は分娩後P値の変動が認められるが、微弱発情で徴候を確認できずに推移して、黒毛和種の分娩後早期受胎困難症例の一形を示している。

9例32.1%(Fig. 6および7牛No22, 25)はIII型類似としたが、分娩後45~65日までP値の上昇が認められず、遅延型のII型類似とも考えられる。とくに(Fig. 6)の5例18%は卵巢静止が持続して、分娩後の無発情経過症例の多発を示唆している。

分娩後20日以内にP値の上昇を認め、その後低値を持続するIII型について、守野ら⁹⁾は卵巢静止例13.2%と卵胞囊腫例10.5%を認めている。本実験ではこのIII型の卵巢静止と卵胞囊腫は各1例(Fig. 7牛No18, 19)で各々3.57%と少なく、黒毛和種と乳牛の特性の差異が関連するものと思われた。

高値周期停滞型のIV型に類似していたのは1例(Fig. 7牛No5)で、守野らと同様の成績を認め、初回排卵後の黄体遺残がみられた。本実験で遅延・低値周期停止型のIIおよびIII型類似例は、

合計57.1%になり、卵巣嚢腫を除く発生率42.1%⁵⁾より高率に認められた。この発生機序について、分娩後卵巣機能回復が不十分のため起こるのか、回復後の新たな要因によって生ずるのか明確でなく、乳牛では泌乳の増加にともなうエネルギーバランスの崩壊などの関連が推測されている。⁵⁾

泌乳量が乳牛より少ない黒毛和種においては、哺乳と繁殖性の関連が検討されている。鈴木ら¹³⁾は分娩後の早期離乳について、初回排卵までの日数が哺乳期間の長い牛ほど長く、その間に直線回帰を確認している。また哺乳回数の制限によっては、初回排卵までの日数が1日1回の哺乳で最も短く、自然哺乳では長い成績を得ている。これらのことは哺乳が卵巣機能の再開始を遅らせ、分娩後の早い時期における発情発現の抑制を示唆するとしている。本実験の供試牛はすべて自然哺乳であるため、IIおよびIII型の高率発現の成績と関連があるものと推察される。

黒毛和種の飼養条件と繁殖性について、大津⁷⁾は放牧牛と舎飼牛の実験で、分娩後の繁殖機能の回復が単に栄養的な要因だけによるものでなく、飼養条件などが微妙に関与していることがうかがわれたとしている。また鈴木¹²⁾は2年連続の低栄養飼養下で、経産牛では相当の抵抗性をもって妊娠を継続し、授精回数増加などの現象は子宮内環境の悪化を推察していて、卵巣機能低下は認めていない。本実験成績におよぼす供試牛の飼養環境については、なお検討の必要があると思われる。

ま と め

黒毛和種繁殖雌牛28頭について、分娩後6日～18日から1週間間隔で、脱脂乳中のP値を測定し、卵巣機能回復の状態を検討した。

P値の推移パターンを、守野ら⁵⁾の乳牛におけるI～IV型によって分類した。

正常型は8例みられたが、その内2例は分娩後55日以後卵巣静止に移行した。

遅延・低値周期停滞型は19例と高率に認められた。

高値周期停滞型は1例にみられた。

この結果から、舎飼いの黒毛和種において、分娩後卵巣機能の回復が遅延する例の多いことを確認した。

参 考 文 献

- 1) Ball, P. J. H. : Milk progesterone profiles in relation to dairy herd fertility. *Br. Vet. J.*, 139 : 546~551. 1982.
- 2) Bulman, D. C. & G. E. Lamming : Cases of prolonged luteal activity in the non pregnant dairy cow. *Vet. Rec.*, 100 : 550~552. 1977.
- 3) 上坂章次 : 和牛の繁殖雌牛の初産月齢と分娩間隔に関する調査. 7p., 全国和牛登録協会, 1981.
- 4) Lamming, G. E. & D. C. Bulman : The use of milk progesterone radioimmunoassay in the diagnosis and treatment of subfertility in dairy cows. *Brit. Vet. J.*, 132 : 507~517, 1976.
- 5) 守野 繁・中尾敏彦・角田修男・河田啓一郎・森本龍之助・村井義郎 : 乳汁中プロジェステロン測定による分娩後の卵巣機能の回復状況の追跡. 家畜繁殖学雑誌, 30 (2) : 61~67, 1984.
- 6) Morrow, D. A., S. J. Roberts, K. McEntee & H. G. Gray : Postpartum ovarian activity and uterine involution in dairy cattle. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 149 : 1596~1609, 1966.
- 7) 大津昇三・中村松夫・阿久沢栄一 : 舎飼いあるいは放牧管理した黒毛和種の受胎性について. 家畜繁殖学雑誌, 32 (4) : 165~171, 1986.
- 8) 及川 大・中尾敏彦・森好政晴・河田啓一郎 : ポリスチレンビーズを固相とした脱脂乳中progesterone濃度測定用EIAキットの基礎的ならびに臨床応用的検討. *Jpn. Anim. Repord.*, 33 (2) : 64~72, 1987.
- 9) 佐々木伸雄・百目鬼郁男・中原達夫・山内亮 : 牛における分娩後の卵巣機能と末梢血中エストラジオール 17β およびプロジェステロン. 家畜繁殖学雑誌, 30 (2) : 80~85, 1984.
- 10) 鈴木 修 : 黒毛和種雌牛の繁殖機能の向上に関する研究. 家畜繁殖学雑誌, 32 (3) : 111~117, 1986.
- 11) 鈴木 修・佐藤匡美 : 分娩後3日離乳肉牛の

発情回帰及び血中 Progesterone, estradio-17 β 濃度の変化. 家畜繁殖学雑誌, 25 (4): 183~188, 1978.

- 12) 鈴木 修・佐藤匡美・久保田義正: 性成熟後肉牛における低栄養飼育管理が発情行動および卵巣機能に及ぼす影響. 家畜繁殖学雑誌, 28 (4): 205~210, 1982.
- 13) 鈴木 修・佐藤匡美: 肉牛における1日1回ほ乳ならびに1日2回ほ乳が母牛の分娩後の

繁殖機能および子牛の発育と摂食行動に及ぼす影響. 家畜繁殖学雑誌, 30 (1): 39~45, 1984.

- 14) Van de Weil, D. F. M., C. H. J. Kalis & S. Nasir Hussain Shah: Combined use of milk progesterone profiles, Clinical examination and oestrus observation for the study of fertility in the postpartum period of dairy cows. *Brit. Vet. J.*, 135:

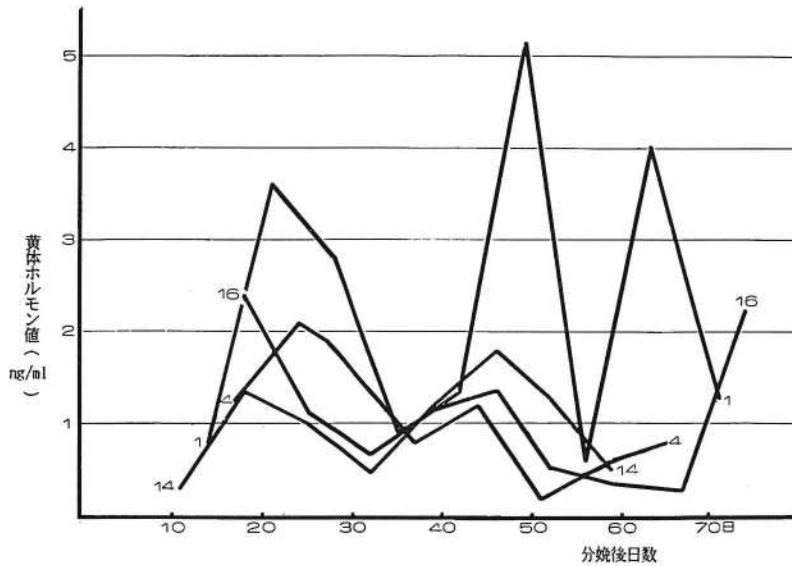


Fig. 1 黒毛種の分娩後脱脂乳中P値の推移 (グラフ中の数字は牛No.)

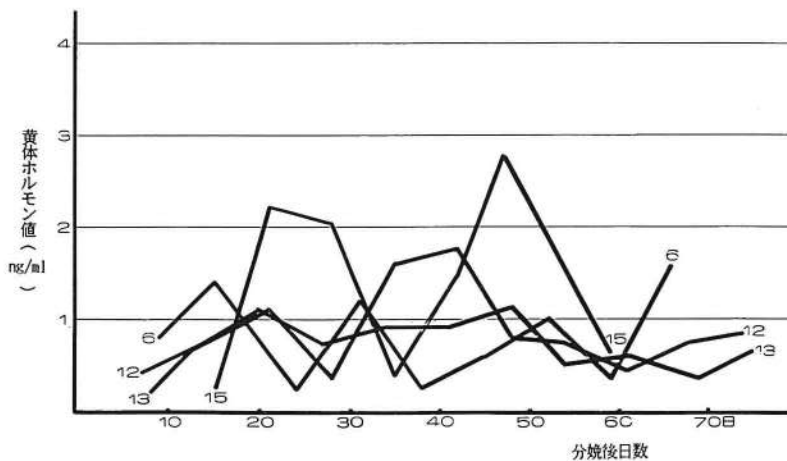


Fig. 2 黒毛和種の分娩後脱脂乳中P値の推移 (グラフ中の数字は牛No.)

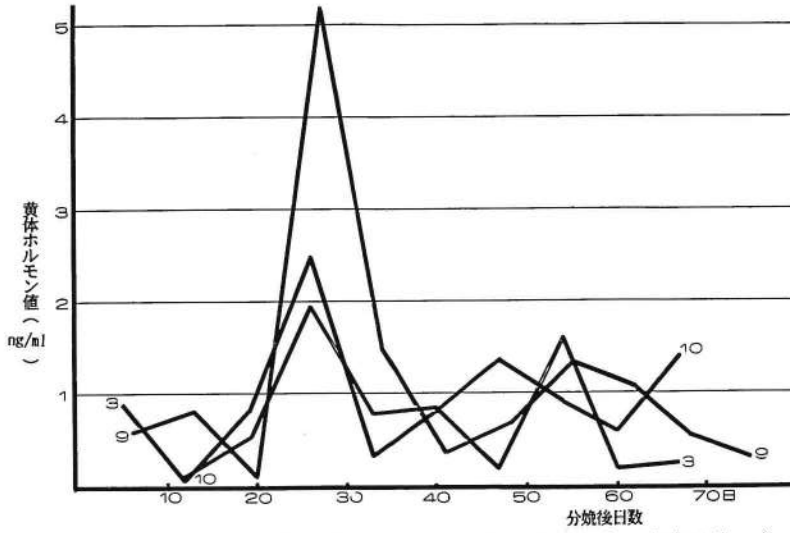


Fig. 3 黒毛和種の分娩後脱脂乳中P値の推 (グラフ中の数字は牛No.)

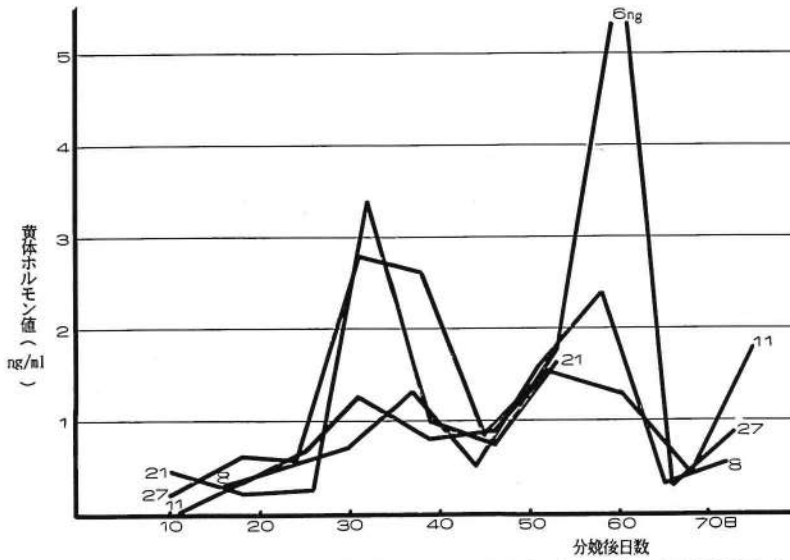


Fig. 4 黒毛和種の分娩後脱脂乳中P値の推移 (グラフ中の数字は牛No.)

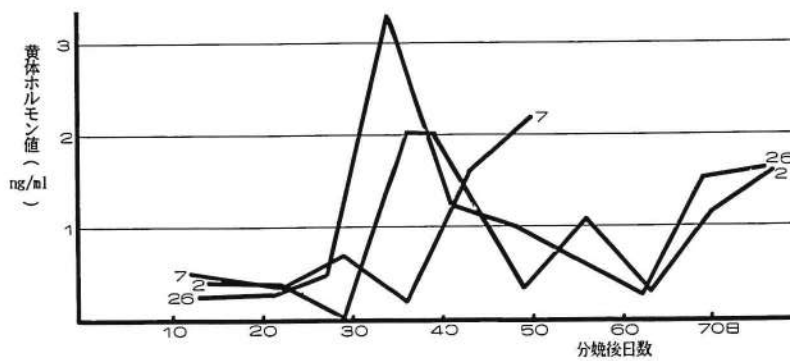


Fig. 5 黒毛和種の分娩後脱脂乳中P値の推移 (グラフ中の数字は牛No.)

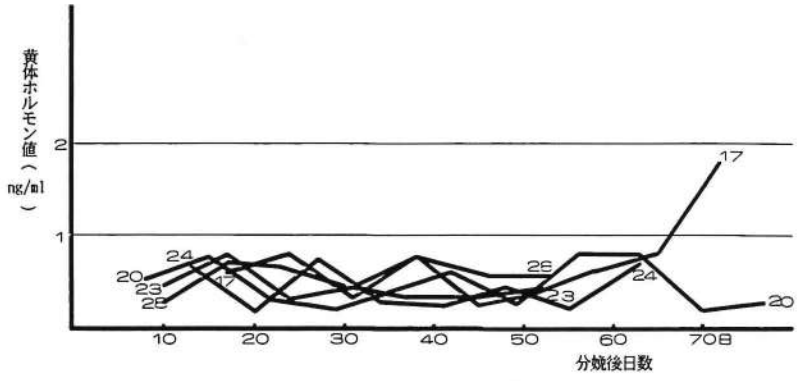


Fig. 6 黒毛和種の分娩後脱脂乳中P値の推移 (グラフ中の数字は牛No.)

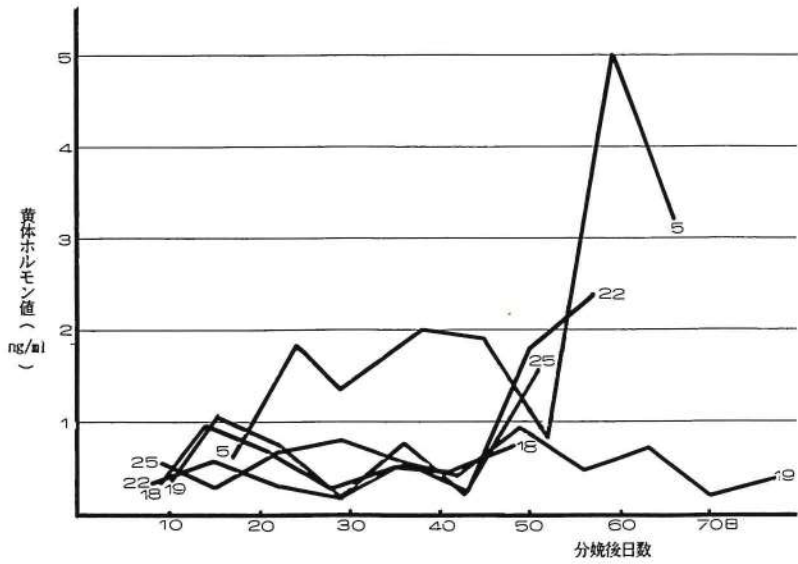


Fig. 7 黒毛和種の分娩後脱脂乳中P値の推移 (グラフ中の数字は牛No.)

牛の肝蛭症防除に関する研究

4. 稲藁被囊肝蛭メタセルカリアのビニールハウス内 および牛舎二階保管による感染力保持期間の検討

白水完治*・阿武雅夫*

〔受付：1988年9月20日〕

THE PREVENTIVE INVESTIGATION OF BOVIN FASCIOLIASIS

4. THE LENGTH OF PERIOD OF INFECTIOUS ABILITY OF *FASCIOLA HEPATICA* METACERCARIA WITHIN STRAW BUNDLE CAPSULES PRESERVED WITHIN A VINYL HOUSE OR ON THE SECOND FLOOR OF A BARN

Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU

The Veterinary Hospital, Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, 1677-1,
Yoshida, Yamaguchi City, 753 Japan

〔Received for publication : September 20, 1988〕

From the 15th of October in 1985 to the 28th of April in 1986, the length of period of infectious ability of *Fasciola hepatica* metacercaria was examined within straw preserved in a vinyl house of on the second floor of a barn.

The infectious ability was abolished in the upper part of the vinyl house after 8 weeks, or on the 13th of December.

On the other hand, the infectious ability was maintained until the 28th of April, 1986 in the lower level of the vinyl house and until the 22nd of March in 1986 on the second floor of the barn.

During this experiment, diurnal range of temperature and humidity in the upper level of the vinyl house was great while that in the lower part of the vinyl house and on the second floor of the barn was small, though temperature was low and humidity was high.

肝蛭の主感染源である稲藁被囊メタセルカリア (*Mc*) の感染力保持期間は、保管環境に強く影響される^{3,5,8,9)}。牛に給与する稲藁の保管場所は、野積み、牛舎階上、倉庫内などのほか、施設の有効利用と簡便さのため水稲育苗ビニールハウス（ハウス）が多く使用されている。

ハウスに保管した稲藁被囊 *Mc* について、中島ら⁴⁾は1ヵ月間で *Mc* のほとんどが死滅し、2ヵ月

で完全に感染力が消失したと報告している。

しかし、ハウス内保管の稲藁を給与した牛にも濃厚感染例が認められたので、阿武ら²⁾は1982年11月より翌年3月までの間、各種の稲藁保管場所の環境について温度および相対湿度 (R. H.) を測定した。その結果、ハウス内の上部では、日照による高温と温度および R. H. の日較差が著しく大きく、下部ではその日較差が小さいことを確認した。

* 山口大学農学部附属家畜病院

今回、ハウス内に保管した稲藁の上、下部および牛舎二階に積み上げた稲藁の中に稲藁被囊 *Mc* を保管し、経時的にその *Mc* をマウスに投与して感染力を調べ、温度および R. H. と対比して検討した。

材料および方法

1. 期間

1985年10月15日から1986年4月28日まで

2. 稲藁被囊 *Mc* の保管場所

ハウスおよび牛舎二階のほぼ中央部で、積み上げた稲藁中の床上30cm (下部) と170cm (上部) に自記温湿度計を設置した。稲藁被囊 *Mc* は、ハウスの上、下部と牛舎二階の上部の三ヵ所で、温湿度計の近くに保管した。*Mc* は1985年8月下旬に実験室内で稲藁に被囊させて使用した。

3. *Mc* の感染力の確認

実験期間中に2週間隔で、*Mc* の1保管場所についてマウス (dd系) 5匹に、保管 *Mc* を各20個経口投与した。3週間後に剖検して感染虫体の有無を調べた。

成績

ハウス上部：実験開始後2週から6週までに感染は低下し、8週の12月13日以後感染力は消失した (Table. 1)。

週平均温度は外気温より4~7°C高く、週平均温度日較差は7~28°Cを示した。とくに強い日照のある日は温度が上昇して最高46°Cまで認められ、夜間の温度下降によって温度日較差は最大35°Cがみられた。週平均 R. H. は、他の場所よりも低値で推移したが R. H. 日較差は大きく、とくに温度と R. H. は反比例し、著しい日内変化を示した (Table. 1~5)。

ハウス下部：12週以後感染は低率となったが持続し、26週の4月28日まで感染が成立した (Table. 1)。週平均温度は外気温とほとんど差がなく、温度日較差は外気温より低値を示した。R. H. は80~90%で推移し、R. H. 日較差は牛舎二階より僅かに高値を示した (Table. 2~5)。

牛舎二階上・下部：上部に保管した *Mc* は、比較的高位の感染力を保持して推移したが、22週の3月22日以後は感染を認めなかった (Table. 1) 上部と下部の温度および R. H. には著しい差はな

く、温度は外気温よりもやや高く日較差は5°C以下の恒温を示した。R. H. も80~90%で日較差は低値の推移が見られた (Table. 2~4)。

考 察

稲藁被囊 *Mc* の感染力保持期間は、水中、サイレージ、アンモニア処理などを除けば、保管環境の温度および湿度に影響することが知られている。上野ら⁹⁾は、実験室内のガラス容器に保管した稲藁被囊 *Mc* を種々の温度と R. H. で維持し、温度は0°C以上で高温になるにしたがって、また R. H. は低値となるほど感染力保持期間は短縮することを明かにしている。

また佐藤ら⁹⁾は青刈水稻の直射日光下の乾燥によって、7日間で感染力の消失を確認している。

ハウス内保管では、中島ら⁹⁾は8月以後ハウスに保存した麦藁被囊の *Mc* が、1ヵ月後にほとんど死滅し2ヵ月後には感染力が完全に消失したと報告している。

本実験におけるハウス内温度及び R. H. の推移は、阿武ら⁹⁾報告と同様の成績を得た。ハウス上部に保管した *Mc* が8週までに感染力を消失したことは、日照による高温と著しい温度日較差および低 R. H. の推移が強く影響していると考えられる。しかし、ハウス内の下部では、12週以後感染力の低下がみられたが26週後でも感染が確認されて、外気温に近い恒温と高 R. H. の持続が *Mc* の感染力保持に好条件であったことを示している。

中島ら⁹⁾は、*Mc* の感染力保持期間の短縮が、実験期間中ハウス内で連日50°C前後の最高温度を示したことに起因すると考察している。本実験の実験開始時期は10月15日からであったが、ハウス上部ではほぼ同様の高温を認めた。しかし、ハウス下部では外気温に近似した恒温と高 R. H. を示した成績は、ハウス内に積み上げた稲藁によって暖気の対流が阻害され、また露出した床の土壌の温度と水分が関連していると考えられる。

これらのことから、ハウス内に積み上げた稲藁の保管環境は同一ではなく、部位によって温度と R. H. に著明な差異があって、被囊 *Mc* の感染力保持に強く関連することが確認された。また感染防止とハウス内保管の関連については、積み上げ稲藁の上部を除いて、有効性は無いと判断される。

牛舎二階上部に保管した *Mc* は22週後まで感染

Table. 1 肝経 Mc 感染力保持期間

月/日	11/1	11/5	11/29	12/13	12/26	1/10	1/24	2/7	2/21	3/7	3/22	4/28
ビニールハウス上部	1	2	1	0	0	—	—	—	—	—	—	—
ビニールハウス下部	3	3	3	2	3	1	1	1	2	1	1	1
牛舎階上 上部	4	4	4	3	4	2	2	2	2	3	1	0

感染マウス数

Table. 2 週間平均温度の比較と推移

月	10			11			12			1			2			3			4								
ハウス上	21	17	15	14	12	9	6	6	6	4	1																
ハウス下	16	13	13	8	8	7	3	1	3	3	0	-1	-1	1	0	0	1	2	0	0	5	4	5	10	11	10	14
牛舎 上	16	14	11	10	12	7	5	3	4	6	1	1	3	3	2	2	3	4	2	4	9	7	7	10	11	12	15
牛舎 下	16	13	11	9	9	6	3	1	4	4	1	1	2	4	2	3	3	3	2	4	8	8	6	10	11	11	14
外気温	14	10	10	7	7	5	0	-1	1	2	-2	-3	-1	1	0	-2	1	1	0	2	6	5	4	8	10		

単位°C

Table. 3 週間平均温度日較差の比較と推移

月	10			11			12			1			2			3			4								
ハウス上	28	17	14	21	24	16	9	7	16	13	6																
ハウス下	3	8	3	6	8	4	2	2	6	7	6	3	5	5	5	5	6	5	6	8	10	8	8	11	11	13	8
牛舎 上	3	5	2	2	4	3	2	1	1	4	4	1	3	3	2	1	3	2	3	5	5	3	6	5	6	9	3
牛舎 下	4	3	2	2	2	2	2	2	1	2	4	3	1	2	2	2	3	3	3	4	5	3	4	4	4	5	3
外気温	10	13	7	8	9	9	5	5	8	9	7	7	10	8	8	6	9	7	8	12	12	9	12	11	11		

単位°C

Table. 4 週間平均相対湿度の比較と推移

月	10			11			12			1			2			3											
ハウス上	77	79	79	75	82	89	84	79	78	77	87																
ハウス下	85	85	81	84	84	92	89	94	89	83	86	91	92	88	81	81	84	84	84	86	88	90	80	83	85	79	86
牛舎 上	93	89	93	96	92	94	93	94	95	92	94	94	94	88	83	82	80	84	82	82	78	76	80	81	75	77	76
牛舎 下	90	95	98	98	95	90	92	93	96	91	95	97	98	96	92	94	92	95	95	94	93	96	92	87	93	87	94

単位°C

Table. 5 週間平均相対湿度日較差の比較と推移

月	10			11			12			1			2			3											
ハウス上	52	42	33	47	37	23	23	40	32	29	13																
ハウス下	16	18	12	15	14	11	7	6	17	17	11	10	11	20	19	17	20	23	19	19	9	17	28	26	19	33	24
牛舎 上	7	10	3	5	6	0	7	4	7	7	6	3	7	11	8	8	10	12	15	20	28	11	27	22	28	21	31
牛舎 下	12	6	0	0	5	4	6	5	4	5	4	0	1	2	6	9	7	8	8	8	8	8	5	7	7	6	10

単位°C

を認めたと、外気温よりやや高いが秋冬期の低温と、5°C以内の日較差の恒温と高い R. H. での推移によって *Mc* の感染力保持期間が延長したものと推察される。

本実験の結果、ハウス上方に積み上げられた稲藁以外では、その保管環境によって *Mc* 感染力の明かな短縮が認められず、秋収穫の稲藁によって1月以後⁷⁾や4月にも感染が推測される¹⁾状態が確認された。

ま と め

ビニールハウスおよび牛舎二階に積み上げて保管している稲藁の中に、稲藁被囊メタセルカリアを収納して経時的にマウスに投与し、感染力の保持期間と収納部位の温度および相対湿度を対比して検討した。

ハウス上部では、温度および相対湿度に著しい日較差がみられ、メタセルカリアは実験開始後8週の12月13日に感染力が消失した。

ハウス下部および牛舎二階では低恒温、高恒湿度の推移がみられ、ハウス下部では4月28日まで、牛舎二階では3月22日まで感染力保持が確認された。

本論文の要旨は61年度日本獣医畜産学会(中国)において報告した。

参 考 文 献

- 1) 阿武雅夫・白水完治・田中幹郎・原 行雄・中間実徳・大塚宏光：牛肝蛭 EPG の2ヵ月間推移の成績。獣医畜産新報, 742: 253~257, 1983.
- 2) 阿武雅夫・白水完治：ウシの肝蛭症防除に関する研究, 1. 山口県山間地域における稲藁

保管環境(温度, 湿度)の検討, 山口獣医学雑誌, (12): 89~96, 1985.

- 3) Boray, J. C. & Enigh, E.: Laboratory studies on the survival and infectivity of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica metacercaria*. *J. Trop. Parasit.*, 15: 324~331, 1964.
- 4) 中島一男・吉岡 豊・青山 譲・小山方玄・吉原 忍：牛肝蛭病防除のプログラム作成に関する基礎的研究. 第2報 稲藁の保存と肝蛭メタセルカリアの生存期間. 畜産の研究, 35(2): 71~72, 1964.
- 5) 佐藤裕一・早川 薫・平 詔亨・上野 計：仙台市における稲藁に付着した肝蛭メタセルカリアの感染力保持期間. 日本獣医師会雑誌, 32: 145~148, 1979.
- 6) 佐藤裕一・川村芳夫・伊藤四郎・早川 薫・長山雄一：稲藁付着肝てつメタセルカリアの感染力保持期間とその殺滅効果. 畜産の研究, 31(1): 73~75, 1980.
- 7) 白水完治・阿武雅夫：牛の肝蛭症防除に関する研究. 3. 肝蛭自然感染牛のトリクラベンダゾール投薬駆虫後の EPG 推移の検討. 山口獣医学雑誌, (14): 31~36, 1987.
- 8) 上野 計・平 詔亨・吉原 忍：稲藁に被覆した肝蛭メタセルカリアの感染力保持期間. 農林省家畜衛生試験場報告, (76): 5~9, 1978.
- 9) Zarnowski, E.: Investigation on the influence of certain factors of external environment on the survival and infectivity of *metacercariae* of *Fasciola hepatica*. *Bull. Vet. Inst. Pul.*, 11(1~2): 1~22, 1967.

山口獣医学雑誌 投稿規定

1. 山口獣医学雑誌（以下、雑誌という）に関する原稿の取り扱いは、この規定に拠る。
2. 原稿は2部〔正本1部、コピー1部（ゼロックス、リコピー等々）〕を学会事務局あて送付する。
3. 原稿は、編集委員において審査し、原則として、受付順に登載する。
4. 審査の結果、採用と認められた原稿は、雑誌の印刷発刊後においても、原則として著者へ返却しない。
5. 審査の結果、不採用と認められた原稿は、原則として、受付3か月以内に返却する。但しこの場合、不採用の理由を明らかにする義務を負わない。
6. 原稿は、原則として、刷り上がり6ページ（1ページ約2,000字）以内とし、当学会所定の原稿用紙（22字×44行）に記述する。原稿用紙は、申し出があれば、無償で分与する。
なお、制限紙数には、論文表題、著者名、所属機関名、図表、文献、写真など一切を含む。抄録は和文、欧文のいずれにおいても、制限紙数に含まれる。制限紙数を超過した分およびカラー写真については、原則として、著者実費負担とする。
7. 和文原稿は、現代かなづかい、平仮名、横書き、楷書で記述し、欧文抄録は刷り上がり1ページ以内とする。欧文（英文または独文）原稿は、厚手のタイプライター用紙にダブルスペースでタイプライティングするとともに、別に簡潔に要約した日本文抄録（刷り上がり1ページ以内）を添付する。
8. 図表並びに写真は、まとめて原稿の最後につけ、論文の中に、それらを置く位置を明確に指定する。写真は原則として「手札判」以上の大きさとし、番号をつける場合は直接写真に記入せず台紙に位置と番号を記入する。必要に応じて、天地左右を指定する。
9. カラー写真をトリミングする場合はコピー（ゼロックス等々、白黒で可）について記入指定する。
10. 凸版の原図（図版、体温表など）は、必ず、墨汁、黒インキなどで青色方眼紙または白紙に明記する。凸版原図および写真の送付にあたっては、折・汚損に留意し、台紙に仮付し、その表面を硫酸紙、セロファン紙などで覆う。
11. 引用文献は、直接、本文に引用したものに限り、著者名、論文表題、登載誌、巻（号）、始頁～終頁、西暦年を明記し、原則としてアルファベット順に配列し、番号をつけ、下記の様式で記載する。特に句読点に注意し、イタリック字体は赤線のアンダーラインで指定する。

例 雑誌

和文： 5) 松本正弘・中村一夫：人および動物血液中の日本脳炎ウイルス中和抗体の分布と推移について。熱帯医学, 15 (6) : 272~285. 1975.

英文： 18) Lawrence J. E. and Clark, D. H. : The Lysis of Leptospire by Antiserum. Amer. J. of Trop. Med. Hyg., 24 (2) : 250~260. 1975.

単行本

和文： 7) 山村雄一・石坂公成：免疫化学概論, 2版: 15~18. 朝倉書店, 東京. 1973.

英文： 15) Smith, H. A., Jones, T. C. and Hunt, R. D. : Veterinary Pathology. 4th ed. Lea & Febiger Pub., Philadelphia. U.S.A. 1972.

12. 外国人名、地名などは、原語のまま記述し、数字は算用数字、度量衡はメートル法に拠る。
13. 印刷の校正は編集委員が行う。但し、初校は著者が行うものとし、この場合、原則として、内容の訂正は認めない。
14. 別刷は、100部まで無償で贈呈する。それ以上の部数については、著者実費負担とする。必要部数については、初校（著者校正）のとき、原稿の右上端に朱書すること。

山口県獣医師会学会規則

- 第1条 学会は、山口県獣医師会定款第2条及び第3条の目的を達するため、学術研究業績発表事業を行い、山口県獣医学会と称する。
- 第2条 学会長は山口県獣医師会会長とする。
- 第3条 会の公正円滑な運営を図るために学会運営委員会を設置する。
- 第4条 運営委員は16名以内とし、理事会に諮り会長これを委嘱し、任期は2か年とする。
- 第5条 学会は年1回以上開催する。
- 第6条 学会は機関誌「山口獣医学雑誌」を年1回以上発刊し、会員及び関係機関に配布、寄贈及び交換を行うものとする。
- 第7条 機関誌の編集は、別に定める「山口獣医学雑誌編集内規」による。
- 第8条 規則に定めない事項は運営委員会においてこれを決定する。
- 第9条 規則の改廃については理事会の議決を要する。

付 則

この規則は昭和54年10月13日から実施する。

山口獣医学雑誌編集内規

- 第1条 雑誌は、原則として毎年8月に定期刊行する。
- 第2条 編集は獣医学、医学、生物学、公衆衛生学及び関連領域の総説、原著、短報、資料等で、会員の寄稿原稿及び学会の依頼原稿について行う。
- 第3条 学会長は、編集委員若干名を委嘱し、委員会を設置する。
- 第4条 学会長は、学会事務局に、発刊、配布、寄贈、交換、広告取得等の事務を担当させる。
- 第5条 委員の任期は2年とする。ただし再任を妨げない。
- 第6条 編集委員会
- (1) 委員会は、会長が必要に応じて招集する。
 - (2) 委員長は、委員の互選による。
 - (3) 委員会は、寄稿原稿の採否について審査する。
 - (4) 委員会は、発行部数を決定する。
- 第7条 内規に定めのない事項は、編集委員会において決定する。
- 第8条 内規の改廃については、編集委員会及び学会運営委員会において決定する。

付 則

この内規は、昭和54年10月13日から実施する。

山口県獣医師会関係事業および刊行物

事業概要

獣医学術の発達普及と獣医業務の公正円滑な発展を図り、地域社会の畜産の興隆と公衆衛生の発達に寄与するとともに、獣医業技術倫理に基づく獣医師の学識、技術、教養、品性、等々の向上を図るための諸種の事業を行う。

学会・講習会・研修会

山口県獣医学会

昭和37年第1回開催、毎年1回開催、昭和63年現在第27回学会を終了

榎村 浩博士記念賞

昭和42年、榎村博士から寄贈された芳志を基金として設定された。この記念賞は、毎年開催される山口県獣医学会における優秀研究発表者へ授与される

講習会・研修会

臨床（大動物、小動物、鶏病）、公衆衛生、等々の講習、研修会を県獣医師会、中国地区連合獣医師会、日本獣医師会、山口県、農林水産省、厚生省、等々の単独開催、共催、後援によって年5～6回実施

刊行物

山口県獣医師会会報

昭和36年（1961年）6月創刊、毎月1回発行、現在（昭和63年11月）第330号を発刊。会報、公文、広報、雑報、随筆、消息、等々を登載。県内会員および全国都道府県獣医師会へ配布

山口獣医学雑誌 The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine

昭和49年（1974年）1月創刊、毎年1回発行、現在（昭和63年11月）第15号を発刊。邦文、英文、独文の総説、原著、等々論文を登載。山口県獣医学会の機関誌として内外の学術誌と交換

山口獣医学雑誌 第15号 昭和63年

The Yamaguchi Journal
of Veterinary Medicine

No. 15 1988

昭和63年11月25日印刷

昭和63年11月30日発行

山口県獣医学会

学会事務局

山口県獣医師会館内

山口県小郡町下郷東蔵敷3-1080-3

郵便番号 754 電話 小郡 (08397) 2-1174番

印刷所

コロニー印刷 山口県防府市台道長沢 522番地

電話 防府 (0835) 32-0069番

（毎年1回発行）

THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No.15 NOVEMBER 1988

CONTENTS

REVIEW

- Classification of Anterior Pituitary Cells.
Kazumasa KUROSUMI1~42

ORIGINAL ARTICLES

- Computed Tomography of the Brain of Japanese Monkey (*Macaca fuscata*).
Takashi MAKITA, Takao OHOMOTO, Satoshi KAGABU, Koichi MAMBA,
Kazuo SUZUKI, and Genji SHIBATA43~48
- Computed Tomography of the Brain of Swine and Wild Boar.
Takashi MAKITA, Tetsuya ISHIDA, Masaya TOMINAGA, Satoshi KAGABU,
Koichi MAMBA and Genji SHIBATA49~60
- Body and Organ Weights and the Length of Intestine of African (*Syncerina caffer*)
and Asiatic Water Buffalo (*Bubalus buffelus*).
Takashi MAKITA, Takashi ASAHINA, Hiroshi ICHIMURA, Tetsuya ISHIDA,
Satoshi KAGABU, Hiroshi KARIYAZONO, Mutsumi KAWATA, Reiko KODAKA,
Koichi MAMBA, Takao OHOMOTO, Miho OHOUÉ, Koji SHIMOUCHE,
Katsuhito SONE, Tadatoshi TANIGUCHI, Masaya TOMINAGA and
Motomu WATANABE61~82
- Estimation of Ovarian Function of Japanese Black Cattle by Progesteron Measurement in Milk
After Delivery.
Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU83~88
- The Preventive Investigation of Bovine *Fascioliasis*.
4. The Length of Period of Infectious Ability of *Fasciola hepatica* Metacercaria within Straw
Bundle Capsules Preserved within Vinyl House or in the Second Floor of Barn.
Kanji SHIRAMIZU and Masao ABU89~92

ADDENDA

- Rules of Contribution to the Official Journal.93
- Rule of the Association.94
- Bylaw for the Arrangement of the Official Journal.94
- Outline of the Enterprises and the Publications (*colophon page*)